

Université de Montréal

**Profil et déterminants comportemental et physiologique
de l'ascension à la dominance en milieu naturel chez les
femelles d'une espèce de poisson hautement sociale**

par

Sophie St-Cyr

Département de sciences biologiques

Faculté des arts et des sciences

Mémoire présenté à la Faculté des arts et des sciences
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise ès Sciences
en Sciences biologiques

Mars, 2011

© Sophie St-Cyr, 2010

Université de Montréal
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Ce mémoire intitulé :

Profil et déterminants comportemental et physiologique de l'ascension à la dominance en
milieu naturel chez une espèce de poisson hautement sociale

Présenté par :

Sophie St-Cyr

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dr Michel Anctil, président-rapporteur

Dre Nadia Aubin-Horth, directrice de recherche

Dre Frédérique Dubois, membre du jury

Résumé

Malgré le fait que le statut social soit reconnu comme ayant une forte influence sur l'aptitude, les facteurs affectant le statut social et les changements de ce statut demeurent peu connus. De plus, les études sur la dominance ayant un lien avec l'agressivité portent rarement sur des femelles. Nous étudierons ces aspects en utilisant *Neolamprologus pulcher*, un poisson à reproduction coopérative du lac Tanganyika. La probabilité d'ascension sociale était manipulée sur le terrain et les changements physiologiques et comportementaux, ainsi que le niveau plasmatique de testostérone, associé avec l'ascension à la dominance de femelles subordonnées étaient caractérisés. Le degré de coopération et la masse étaient supérieurs chez les femelles ascendantes par rapport aux femelles non-ascendantes d'un même groupe social. Après une semaine d'ascension sociale, les femelles ascendantes ne différaient pas comportementalement, mais différaient physiologiquement des femelles dominantes. Les femelles dominantes, ascendantes et subordonnées ne différaient pas quant au niveau de testostérone plasmatique. Comprendre les bénéfices des comportements coopératifs pour les subordonnés a longtemps posé un problème évolutif. Nos résultats impliquent que les comportements coûteux métaboliquement peuvent avoir été sélectionnés en améliorant l'aptitude future via l'héritage du territoire et du statut social. De plus, le degré de coopération pourrait être un signal de qualité détecté par les compétiteurs et les collaborateurs.

Mots-clés : Ascension sociale, rang de dominance, prestige social, coopération, hiérarchie, testostérone, Cichlidae, *Neolamprologus pulcher*, Lac Tanganyika.

Abstract

Although social rank is known to have a strong influence on fitness, factors affecting rank and changes in rank remain poorly understood. In addition, studies of dominance and its relation to aggression rarely focus on females. We address these issues in this study using *Neolamprologus pulcher*, a cooperatively breeding fish species from Lake Tanganyika. The probability of social ascension was manipulated in the field and the physiological and behavioural changes as well as plasma testosterone level associated with subordinate female ascension were characterized. Both helping effort (degree of cooperation) and body size were greater in ascending versus paired same social group non-ascending females. After one week of social ascension, ascending females did not differ behaviourally but were physiologically different (higher body condition, smaller, lighter) from dominant females. Dominant, ascending females and subordinate females did not differ in plasma testosterone levels. Understanding the benefits of helping behaviour for subordinates has long been an evolutionary challenge and our results imply that this costly metabolic behaviour may have been selected by enhancing future fitness via territory and rank inheritance. Furthermore, helping effort could be a signal of quality detected by both competitors and collaborators.

Keywords : Social ascension, dominance rank, social prestige, cooperation, hierarchy, testosterone, Cichlidae, *Neolamprologus pulcher*, Lake Tanganyika.

Table des matières

1. Introduction	1
1.1. Dominance sociale	2
1.2. Reproduction coopérative	3
1.2.1. Définitions	3
1.2.2. Sélection de parentèle	4
1.2.3. Augmentation de la taille du groupe	4
1.2.4. « Payer-pour-rester »	5
1.2.5. Prestige social	5
1.3. Rôles comportementaux de la testostérone	6
1.4. Espèce modèle : <i>Neolamprologus pulcher</i>	8
1.4.1. Présentation de l'espèce	8
1.4.2. Hiérarchie de dominance	11
1.4.3. Reproduction coopérative	12
1.4.4. Conditions remplies pour la sélection de parentèle	13
1.4.5. Conditions remplies pour l'hypothèse de l'augmentation de la taille du groupe	14
1.4.6. Conditions remplies pour l'hypothèse du « payer-pour-rester »	14
1.4.7. Conditions remplies pour l'hypothèse du prestige social	15
1.4.8. Testostérone et dominance	16
1.5. Hypothèses et objectifs	16
2. Matériel et méthodes	20
2.1. Données comportementale et physiologiques	21
2.1.1. Identification et sélection des groupes	21
2.1.2. Marquage des individus	24
2.1.3. Observations comportementales	26
2.1.4. Collecte des mesures physiologiques et des échantillons	26
2.2. Hiérarchies de dominance	26

2.3.	Mesure de la testostérone plasmatique.....	29
2.3.1.	Extraction des stéroïdes du plasma	29
2.3.2.	Immunoessai enzymatique	31
2.4.	Statistiques	31
2.4.1.	Analyses en composantes principales	31
2.4.2.	Corrélations de Kendall et de Pearson	33
3.	Résultats	34
3.1.	Reaching for the top, impacts of cooperation and body size on dominance ascension in a social fish (article en rédaction).....	35
3.1.1.	Abstract	36
3.1.2.	Introduction.....	37
3.1.3.	Methods.....	40
3.1.4.	Results	44
3.1.5.	Discussion	47
3.1.6.	Acknowledgements	51
3.1.7.	References	52
3.1.8.	Legends to figures	61
3.2.	Répartition des femelles selon leurs comportements, leur physiologie et leur niveau de testostérone plasmatique.....	68
3.2.1.	Groupe ment des femelles par analyse en composantes principales.....	68
3.2.2.	Corrélation entre les descripteurs de l'analyse en composantes principales.....	71
4.	Discussion	78
4.1.	Changements dans le groupe lors de l'ascension sociale.....	79
4.1.1.	Héritabilité du territoire par une femelle subordonnée du groupe social....	79
4.1.2.	Linéarité de la hiérarchie suivant le retrait de la femelle dominante	79
4.1.3.	Changements physiologiques et comportementaux durant l'ascension sociale.....	80

4.2. Déterminants de l'ascension sociale	82
4.2.1. Le degré de coopération détermine l'identité de la future femelle ascendante	82
4.2.2. La masse détermine l'identité de la future femelle ascendante.....	83
4.3. Support de l'hypothèse du prestige social.....	84
4.4. Niveau de testostérone plasmatique selon les statuts sociaux.....	85
5. Conclusions et perspectives	87
6. Contributions et déclarations.....	91
7. Bibliographie.....	92
8. Annexe 1 : Éthogramme de <i>Neolamprologus pulcher</i>	I
9. Annexe 2 : Expression de gènes dans le cerveau.....	IV
9.1. Introduction	IV
9.1.1. Concept de biopuce	IV
9.1.2. Objectif et hypothèse.....	VII
9.2. Matériel et méthodes	VII
9.2.1. Prélèvement du cerveau entier	VII
9.2.2. Patron de comparaison expérimental	VII
9.2.3. Biopuce utilisée	X
9.2.4. Extraction de l'ARN du cerveau et préparation de l'ARN total	X
9.2.5. Hybridation à la biopuce	XI
9.2.6. Analyse de l'image.....	XI
9.3. Résultats	XII
9.3.1. Comparaison quantitative des patrons d'expression de gènes du cerveau entre les statuts sociaux.....	XII
9.3.2. Problèmes d'analyse des résultats de biopuce	XIV

Liste des tableaux

Tableau 1. Corrélations de Pearson entre les ensembles de descripteurs.....	74
---	----

Liste des figures

Figure 1.1. <i>Neolamprologus pulcher</i> dans son milieu naturel.....	10
Figure 2.1. Carte approximative des groupes de la sous-population New Castle.	22
Figure 2.2. Photographie et représentation schématique d'un territoire.	23
Figure 2.3. Marquage des individus.	25
Figure 2.4. Calcul de la hiérarchie de dominance pour un groupe.	28
Figure 2.5. Montage pour extraction en phase solide.	30
Figure 3.1. Treatment groups where the dominant female was removed were compared to control groups.	63
Figure 3.2. Body size and cooperation at the start of experiment predict probability of ascension of subordinate females presented with a social opportunity.	64
Figure 3.3. Females of the three social statuses do not differ in their plasmatic testosterone levels.	65
Figure 3.4. Dominant females differed in behaviour and physiology from the subordinate females at the start of the experiment.	66
Figure 3.5. Ascending females change in dominance and social behaviour when they access a higher dominance rank when compared to stable subordinate females and dominant females from control groups.	67
Figure 3.6. Répartition des femelles par analyse en composantes principales.	70
Figure 3.7. Corrélation entre les descripteurs par analyse en composantes principales.	72
Figure 9.1. Représentation schématique et réelle d'une biopuce.	VI
Figure 9.2. Comparaison par patron de référence avec inversion de colorant.	IX
Figure 9.3. Comparaison des patrons d'expression de gène entre les femelles ascendantes et les femelles dominantes et subordonnées stables.	XIII

Liste des abréviations

ACP	Analyse en composantes principales
Ad	Agression donnée (par le poisson focal)
ADNc	AND complémentaire
Ar	Agression reçue
AR	Aide à la reproduction
Asc	Femelle ascendante
AT	Activité totale
Cadrage 1	Analyse en composantes principales, cadrage de type 1
Cadrage 2	Analyse en composantes principales, cadrage de type 2
Cht	Temps passé dans la chambre de reproduction
Coop	Indice de coopération
CP	Composante principale
FCF	Facteur de condition de Fulton
FD	Femelle dominante
FS	Femelle subordonnée
G	Grattage
IEA	Immunoessai enzymatique
ID	Indice de dominance
IDt	Indice de dominance total
IGS	Indice gonado-somatique
IHS	Indice hépato-somatique
IMD	Interaction avec le mâle dominant
IS	Indice social
LS	Longueur standard
Ma	Alimentation
Ms	Masse

Sud	Subordination donnée
Sur	Subordination reçue
T	Testostérone

Remerciements

Mes premiers remerciements vont à ma directrice de maîtrise, Dre. Nadia Aubin-Horth pour sa confiance sans limites et pour m'avoir donné projet si intéressant et innovateur. Merci de m'avoir soutenue dans les dédales de mon projet et de m'avoir fait participer à plusieurs congrès qui furent très instructifs. Durant ces quelques années, j'ai développée mon esprit scientifique et un grand intérêt pour la recherche. Je dois aussi remercier ma co-directrice non officielle, Dre. Sigal Balshine, de l'Université McMaster qui m'a permis de faire une saison d'échantillonnage exceptionnelle et formatrice en Zambie. Son soutien lors de la dernière année fut très apprécié.

Merci à mes collègues de laboratoire, Matthew Taves, Sophie Cloutier, Marilou Deschênes, Sophie Wojcik et Simonne Harvey-Lavoie pour leur aide durant mes études préliminaires et avec les nouvelles techniques ainsi que de leur présence stimulante.

Merci à l'équipe formidable des Tanganyika babes(!) formée de Dre. Balshine, Dre. Marian Wong, Susan Marsh-Rollo, Jennifer Reynolds en plus de moi-même pour leur esprit d'équipe et leur aide inestimable sur le terrain. Vous êtes toutes devenues des amies chères.

Des remerciements doivent également être faits à l'équipe zambienne. Cette étude fut possible grâce à l'aide du Dr. H. Phiri et du Dr. Nagalda du Ministère Zambien de l'agriculture, de l'alimentation et des pêcheries et de l'équipe formée par Enock, John et Maxwell Juma. Merci à l'équipe du Tanganyika Lodge, le gérant Boniface et sa famille, Watson et Johan pour avoir pris soin de moi.

Finalement, je dois remercier mes proches. Mes parents pour m'avoir intéressée à la biologie dès mon enfance et pour leur soutien et confiance. Et merci à mon Mathieu qui me complète si bien; pour son esprit scientifique, son soutien inconditionnel, ses encouragements constants et surtout son amour.

1. Introduction

1.1. Dominance sociale

Dans les groupes composés de plus de deux individus, les relations de compétition de type dominance/subordination peuvent se transformer en hiérarchies de dominance sociale dont les statuts sociaux sont déterminés majoritairement par le résultat de rencontres agressives entre les individus (Huntingford et Turner 1984). Plusieurs espèces animales forment des hiérarchies de dominance [mammifères : rat (Becker et Flaherty 1968), singe (Varley et Symmes 1966), vache (Reinhardt et Reinhardt 1975); oiseaux : passereaux (Cockburn et al. 2008), perruche (Seibert et Crowell-Davis 2001), poulet (Mench et Ottinger 1991); reptiles : iguane (Phillips et al. 1993), lézard (Plavicki et al. 2004), vipère (Nilson et Andrén 1982); amphibiens : rainette (Chu et al. 1998), tortue, crapaud et grenouille (Boice et al. 1974); poissons : cichlidé (Renn et al. 2008), labridae (Semsar et Godwin 2003), salmonidé (Nakano 1995); insectes : coquerelle (Tamara Montrose et al. 2008), fourmis (Heinze 2008), guêpe (Cant et al. 2006)]. On retrouve des différences comportementales, physiologiques et moléculaires entre les statuts sociaux de ces espèces. Ces hiérarchies peuvent être présentes chez les deux sexes et être basées sur l'accès à la nourriture (Jolly 1984, Kappeler 1990), la reproduction (Miller et al. 2010, Paull et al. 2010) et la survie (Wilson 1971, Blanchard et Blanchard 1990, Silk et al. 2010).

Plusieurs facteurs peuvent influencer l'issue d'un combat déterminant le statut social. Par exemple, un individu qui aurait préalablement gagné un combat a plus de chance de gagner le combat suivant que s'il n'avait pas eu d'expérience préalable. Il en est de même pour les individus qui perdent un combat. Ce phénomène est appelé « winner and loser effect » ou l'effet du gagnant et du perdant (Beaugrand 1997, Dugatkin 1997, Dugatkin et Druen 2004). De même, l'observation seule d'un combat peut modifier le comportement d'un observateur en lui permettant de déterminer le statut social d'autres individus et ainsi de moduler sa motivation à engager un combat avec ces individus (Earley et Dugatkin 2002, Grosenick et al. 2007). De plus, la position de

subordonnées peut mener à une répression intentionnelle du rythme de croissance, appelé croissance stratégique, afin de minimiser les conflits avec les individus dominants et avec les individus adjacents subordonnés dans la hiérarchie sociale (Wong et al. 2008, Buston 2003). De la même manière, les subordonnés peuvent être réprimés reproductivement, encore une fois pour minimiser les conflits avec les individus plus élevés dans la hiérarchie sociale (Bennet et al. 1996, van Zweden 2010).

Une hiérarchie peut être linéaire, presque linéaire ou circulaire et peut comprendre des inconsistances (Martin et Bateson 1993). Les hiérarchies peuvent être calculées à l'aide de nombreuses méthodes en fonction des caractéristiques de la hiérarchie retrouvée chez une espèce spécifique (De Vries 1995, 1998; Bayly et al. 2006).

Finalement, une façon de comprendre le mécanisme et les facteurs influençant la progression d'individus subordonnés vers une position dominante de la hiérarchie sociale est de retirer un ou les dominants et d'observer quels sont les changements comportementaux ou physiologiques survenant sur les membres de la hiérarchie (Hendricks et al. 1975, Mench et Ottinger 1991, Wingfield et al. 1992, Margulis et al. 1995, Clarke et Faulkes 1998, Less et al. 2010). Ces études portent sur des mammifères (macaque, gorille, rat-taupe nu) et des oiseaux (poulet, mahali à sourcils blancs) dont quelques-uns exercent la reproduction coopérative (rat-taupe nu, mahali à sourcils blancs).

1.2. Reproduction coopérative

1.2.1. Définitions

L'étude de la reproduction coopérative est l'une des branches explorées par la sociobiologie, soit l'étude des bases biologiques des comportements sociaux. L'un des objectifs de la sociobiologie vise à déterminer la valeur adaptative de l'accroissement de la complexité de l'organisation sociale (Wilson 1975). Un bon système à étudier dans cette optique est la reproduction coopérative, qui se définit comme un système social

dans lequel des individus (aides à la reproduction [AR]) retardent leur reproduction dans le but de favoriser la reproduction d'autres individus (reproducteurs) de la même espèce (Wilson 1975). Un comportement coopératif est coûteux pour le donneur mais augmente ultimement l'« aptitude » (le fitness) du donneur et du receveur par rapport à une situation où le comportement coopératif ne serait pas exprimé (Bergmüller et al. 2007). La reproduction coopérative se retrouve chez plusieurs espèces de mammifères (Solomon et French 1997), d'oiseaux (Brown 1987), de poissons (Taborsky et Limberger 1981) et d'insectes (Wilson 1971). Il existe quatre théories majeures pour expliquer la reproduction coopérative : la sélection de parentèle, l'agrandissement du groupe, la théorie « payer-pour rester » et le prestige social.

1.2.2. Sélection de parentèle

La sélection de parentèle spécifie qu'il est plus avantageux d'aider des individus apparentés que non apparenté puisque les AR obtiennent des avantages indirects (reproduction et survie d'individus apparentés) lorsqu'ils exercent des soins aux jeunes partageant une partie de leurs gènes (Hamilton 1964). En effet, la survie d'individus apparentés maximise l'aptitude inclusive d'un individu, soit le nombre de copie de ses gènes qui sont transmis aux générations suivantes (Dawkins 1976). Les preuves empiriques de cette explication de la reproduction coopérative se retrouvent majoritairement chez les insectes tel que les fourmis (Foster et al. 2006). Cette théorie est cependant remise en question depuis que l'on découvre que les AR sont moins apparentés aux reproducteurs que ce qui était généralement admis (Cockburn 1998, Clutton-Brock 2002).

1.2.3. Augmentation de la taille du groupe

Cette hypothèse suggère que les individus, reproducteurs et AR, survivent et se reproduisent mieux (bénéfices directs) dans de plus grands groupes (Bergmüller et al. 2007). Ainsi, le bénéfice de coopérer serait de recruter de nouveaux membres dans le groupe et donc d'augmenter les bénéfices du groupe (Kokko et al. 2001). Une preuve

empirique a été suggérée chez la Rousserole des Seychelles chez qui l'augmentation de la taille du groupe permet l'augmentation de la taille du territoire du dominant dont une petite partie peut ensuite être accaparée par un mâle subordonné (Komdeur et Edelaar 2001).

Les mécanismes et motivations qui promeuvent l'augmentation de la taille du groupe sont par contre durs à distinguer en nature et peuvent consister en conséquences indirecte. Par exemple, le fait de défendre un territoire pour soi peut être avantageux pour d'autres individus présents sur le même territoire (mutualisme non-dirigé; Bergmüller et al. 2007). Également, en donnant des soins parentaux à des jeunes qui ne lui sont pas apparentés, l'individu aide à augmenter la taille du groupe ce qui diluera le risque de prédation par exemple (pseudo-réciprocité) ou permet de s'assurer de recevoir des soins alloparentaux pour ces propres jeunes dans le futur (réciprocité indirecte; Bergmüller et al. 2007).

1.2.4. « Payer-pour-rester »

Selon cette théorie, coopérer serait une forme de « loyer » à payer par l'AR pour ne pas être puni par les reproducteurs du groupe social, par exemple en étant exclu du groupe social (Gaston 1978). En effet, l'AR impose un coût aux reproducteurs (compétition avec le reproducteur de même sexe pour les ressources ou la reproduction) qui peut être compensé par exemple en aidant à prendre soin des jeunes (Sanchez et al. 2002) ou en fournissant de la nourriture aux reproducteurs (Rapaport 2001). Une variante serait de « payer-pour-se-reproduire », soit de coopérer pour obtenir en bénéfice direct une portion de la reproduction des reproducteurs, ce que suggère de manière empirique Heg et al. (2009).

1.2.5. Prestige social

L'hypothèse du prestige social se base sur la théorie du handicap (Zahavi 1975). En effet, un caractère sexuel secondaire sélectionné par la préférence de l'autre sexe confèrerait un handicap pour la survie de son porteur (par exemple la queue du paon

mâle [Zahavi 1975]). Le trait sexuel secondaire « nuisible » serait donc un indicateur honnête de la qualité du partenaire, un individu de meilleure qualité étant capable de supporter un handicap plus important qu'un individu de qualité moindre. Ainsi, un individu présentant un trait plus prononcé, par exemple une longue queue, serait favorisé par les membres de l'autre sexe par rapport à un autre ayant un trait moins prononcé, par exemple une queue de longueur moyenne. De la même manière, le prestige social pourrait être basé sur la fréquence à laquelle un comportement « nuisible » est exercé, tel un comportement altruiste (Zahavi 1995). Ainsi, le comportement altruiste devrait être coûteux pour signaler l'habileté ou la qualité de l'individu, tel un AR, comme collaborateur. Ce prestige servirait aussi à exprimer la qualité comme rival au sein du groupe social et ce pour toute la durée de la coopération (Zahavi 1995). Des AR entrent même en compétition pour exercer des comportements coopératifs lorsque la quantité d'aide nécessaire aux reproducteurs est limitée. Ce phénomène, appelé compétition altruiste (Roberts 1998), est observé entre autre chez une espèce d'oiseau à reproduction coopérative (*Turdoides squamiceps*, Carlisle et Zahavi 1986). Ce type de coopération afin d'obtenir des bénéfices immédiats ou futurs promouvrait l'émergence de systèmes de reconnaissance sociale (Buston et Balshine 2007) afin d'évaluer et mémoriser la qualité des collaborateurs/compétiteurs.

1.3. Rôles comportementaux de la testostérone

La testostérone (T) est une hormone stéroïdienne qui est produite suite à plusieurs réactions enzymatiques à partir du cholestérol provenant de l'alimentation (Nelson 2000). La testostérone est produite majoritairement par les testicules chez les mâles et les ovaires chez les femelles et perçue par des récepteurs spécifiques, permettant une réponse physiologique ou comportementale à cette hormone. Les récepteurs se retrouvent dans une large gamme d'organes et de tissus (Kimura et al. 1993), incluant le cerveau (Munck et Hofmann 2010).

La testostérone joue plusieurs rôles dans l'organisme des vertébrés dont la réaction au stress, dans les changements métaboliques, dans le stockage des gras, dans le cycle de reproduction saisonnier, dans le dimorphisme sexuel, lors des changements de sexe et possède une fonction organisationnelle au cours du développement (Christiansen 2001). La T a également de nombreux rôles comportementaux : comportements de cour, de territorialité, d'agressivité, de soins parentaux, sociaux et associés au statut social (Calsbeek et Sinervo 2002, revue dans Nelson 2000).

La position de dominance sociale est corrélée avec le niveau de T plasmatique chez une espèce de poisson (Oliveira et al. 1996). Il est généralement admis que la T et les stéroïdes en général se retrouvent à des niveaux plus élevés chez les individus dominants par rapport aux individus subordonnés (Albers et al. 2002); c'est le cas par exemple chez le poisson *Astatotilapia burtoni* où les mâles dominants ont de plus hauts niveaux de stéroïdes sexuels que les mâles non-territoriaux (Parikh et al. 2006). Il en est de même chez les femelles dominantes qui peuvent avoir de plus hauts niveaux de T que les femelles subordonnées de leur espèce (Brett 1991, Faulkes et Abbott 1997). Chez certains vertébrés, la simple observation d'un combat peut aussi mener à l'élévation ou la diminution des niveaux de testostérone chez les observateurs (Bernhardt et al. 1998, Oliveira et al. 2001)

Nous connaissons quelques exemples d'espèces où les femelles ont un niveau de testostérone plasmatique aussi ou plus élevé que les mâles de leur espèce. Ces exemples se retrouvent majoritairement chez les femelles d'espèces monomorphiques coloniales à reproduction monogame, polyandre (les femelles se reproduisent avec de multiples partenaires) ou à reproduction coopérative (Oiseaux : Poiani et Fletcher 1994, Goymann et Wingfield 2004; Mammifères : Clutton-Brock et al. 2006). Il semble s'agir d'une adaptation qui apparaît lorsque les femelles d'une espèce sont soumises à une compétition intra-sexuelle intraspécifique intense (Clutton-Brock et al. 2006). Ces hauts niveaux de T chez les femelles peuvent avoir pour effet de masculiniser les femelles du point de vue morphologique, physiologique ou comportemental (Ketterson et al. 2005).

L'estradiol est normalement l'hormone effectuant les rôles physiologiques et comportementaux, équivalant à la T chez les mâles, chez les femelles. Par contre, chez les poissons, la T a un rôle plus important chez les femelles que chez les autres vertébrés alors que la 11-kétotestostérone est l'androgène principal (Kime 1993). L'estradiol est synthétisé suite à une réaction enzymatique, via l'aromatase, sur la T. Cette enzyme est entre autre présente dans le cerveau des vertébrés (Callard et al. 1978). Ainsi, la T circulant dans le plasma peut être transformée en estradiol dans un tissu spécifique. C'est pourquoi le niveau de T plasmatique chez les femelles pourrait ne pas refléter l'hormone stéroïdienne impliquée dans un changement physiologique ou comportemental chez les femelles.

1.4. Espèce modèle : *Neolamprologus pulcher*

1.4.1. Présentation de l'espèce

Les poissons de la famille des cichlidés sont de bons modèles biologiques puisqu'ils présentent une grande diversité de régimes alimentaires, parentaux et de reproduction et occupent des niches biologiques diversifiées. La multitude d'espèces composant cette famille nous offre donc une grande possibilité d'études comparatives. De plus, plusieurs vagues de spéciation de cichlidés sont récentes ou encore en cours dans les grands lacs africains, ce qui implique un faible éloignement phylogénétique entre les espèces (Hofmann et Fernald 2001, Salzburger et al. 2005, Turner 2007). Finalement, au moins deux des six espèces exerçant la reproduction coopérative chez les téléostéens se retrouvent dans cette famille, dont l'une est *Neolamprologus pulcher* (Taborsky 1984). *N. pulcher* a d'ailleurs été la première espèce de poisson connue à faire de la reproduction coopérative (Coeckelberghs 1975, Taborsky et Limberger 1981).

N. pulcher est endémique au Lac Tanganyika et se retrouve à des profondeurs de 3 à 45 m (Balshine-Earn et al. 1998). Cette espèce est hautement territoriale et défend une portion de substrat (moyenne 0,315 m²) parsemé de roches formant des abris et la

chambre de reproduction (Balshine et al. 2001, **Figure 1.1**). Les groupes sociaux se regroupent en sous-populations composées de 2 à plus de 200 territoires (Stiver et al. 2004). Les groupes sociaux sont de tailles variables et composés d'une paire reproductrice dominante et de un à 20 individus subordonnés aidant à la reproduction (Taborsky 1984, 1985, Balshine et al. 2001). Les individus dominants sont les seuls à être couplés, à posséder un territoire et à se reproduire légitimement. Les aidants à la reproduction (AR) ou subordonnés lavent les œufs, larves et alevins, aèrent les œufs et les larves, défendent le territoire et le nid contre des conspécifiques (compétiteurs intrus) et hétérospécifiques et retirent le sable et les escargots du nid. En plus de ces comportements coopératifs, cette espèce exerce une large gamme de comportements agressifs, de subordination mais aussi sociaux (éthogramme complet en **Annexe 1**). Les mâles sont majoritairement polygames et possèdent plusieurs territoires alors que les femelles sont monogames (Desjardins et al. 2008a). Ceci peut expliquer que les femelles dominantes effectuent le plus de comportements coopératifs, alors que les mâles dominants en font le moins. Chez les subordonnés, les femelles coopèrent aussi plus que les mâles (Balshine et al. 2001, Desjardins et al. 2008a).

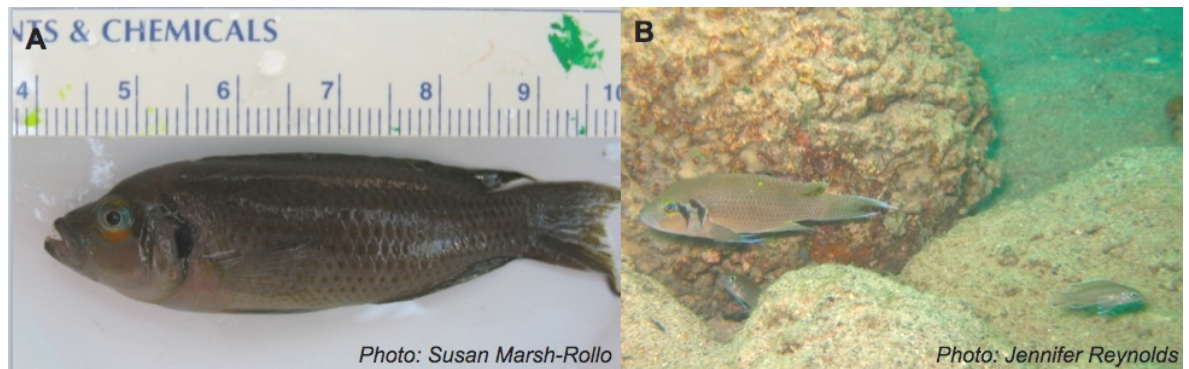


Figure 1.1. *Neolamprologus pulcher* dans son milieu naturel.

A. Taille d'un *N. pulcher* mature en nature. **B.** *N. pulcher* dans son territoire en milieu naturel. L'individu mature et marqué avec de l'élastomère jaune accompagné de deux juvéniles.

1.4.2. Hiérarchie de dominance

Au sein des groupes sociaux de *N. pulcher*, la hiérarchie de dominance linéaire est en fait une file d'attente double basée sur le sexe, l'une pour les mâles, l'autre pour les femelles, afin d'accéder à une position dominante reproductrice au sein du groupe (Balshine-Earn et al. 1998, Heg et al. 2004b). Dans la file d'attente, le subordonné le plus dominant sera appelé AR1, suivi de AR2, etc. Chez *N. pulcher*, la dominance est basée sur la masse des individus (Bender et al. 2008, Fitzpatrick et al. 2008). La masse et la longueur étant positivement corrélées, les individus les plus âgés sont donc plus susceptibles de devenir dominants. L'identité des individus dominants se renouvelle souvent, les femelles demeurant plus longtemps dominantes que les mâles (Stiver et al. 2004, Dierkes et al. 2005). Chez cette espèce, les femelles sont aussi plus dominantes que les mâles. En effet, la femelle reproductrice est l'individu le plus dominant du groupe social alors que les femelles subordonnées sont plus dominantes que les mâles subordonnés (Aubin-Horth et al. 2007). Les mâles subordonnés tendent à émigrer vers de nouveaux groupes pour occuper une position dominante ou améliorer leur position dans la hiérarchie de dominance alors que les femelles sont plus susceptibles d'hériter de la position dominante au sein de leur groupe d'origine (Stiver et al. 2004, 2006; Bergmüller et al. 2005). Finalement, plusieurs études ont démontré que les mâles et femelles subordonnés peuvent entrer rapidement en ascension sociale lorsqu'une position dominante est laissée vacante (Balshine-Earn et al. 1998, Stiver et al. 2006, Fitzpatrick et al. 2008).

Les subordonnés qui atteignent une taille semblable au dominant de leur sexe dans un groupe sont plus susceptibles d'être expulsés du groupe social (Skubic et al. 2004, Hamilton et al. 2005), probablement dû à la compétition pour la position dominante. Balshine-Earn et al. (1998) ont effectué une expérience au cours de laquelle ils empêchaient un AR d'aider au sein de son groupe social pendant un certain temps, en nature, en le retirant de son groupe pour l'y replacer ensuite. Ils ont ainsi découvert qu'à

son retour, l'AR qui n'avait pas aidé reçoit plus d'agressions par les grands subordonnés du groupe, soit les plus élevés dans la file d'attente à la reproduction, mais pas par les dominants. Bergmüller et Taborsky (2005) ont trouvé qu'en laboratoire, un subordonné que l'on empêche d'aider sans le retirer de son groupe social augmente conséquemment la fréquence des comportements de subordination qu'il adresse aux subordonnés les plus élevés dans la hiérarchie. Ces expériences démontrent les conflits intenses entre les subordonnés pour leur position dans la hiérarchie de dominance. De plus, les subordonnés mâles exercent une croissance stratégique, c'est-à-dire qu'ils répriment leur taux de croissance afin de demeurer plus petit que le mâle dominant du groupe (Buchner et al. 2004, Heg et al. 2004b, Dierkes et al. 2005, Hamilton et Heg 2008). De même, les mâles subordonnés matures sont réprimés reproductivement; ils ont un investissement gonadique plus faible que le mâle dominant de leur groupe (Fitzpatrick et al. 2006). Une certaine forme de répression reproductive est aussi présente chez les femelles subordonnées matures qui pondent moins fréquemment que les femelles dominantes (Heg 2008).

1.4.3. Reproduction coopérative

Les dominants retirent des bénéfices d'avoir des AR. La présence d'AR permet aux dominants d'avoir une reproduction accrue, à la fois en terme de nombre d'œufs par ponte qu'en taux de survie des œufs et jeunes, et ce à la fois en laboratoire et en nature (Taborsky 1984, Balshine et al. 2001, Brouwer et al. 2005). De plus, la taille des œufs est corrélée négativement avec le nombre d'AR du groupe, permettant donc de réduire l'investissement de la femelle dominante par œuf, améliorant ainsi son aptitude (Taborsky et al. 2007).

Les comportements de coopérations sont coûteux pour les AR de plusieurs façons. Premièrement, le taux de croissance des subordonnés est plus faible s'ils aident à la reproduction d'une paire dominante que s'ils n'appartiennent pas à un groupe social (Taborsky 1984). De plus, comme nous l'avons vu, les mâles subordonnés répriment

leur croissance (Dierkes et al. 2005, Hamilton et Heg 2008) et les subordonnés des deux sexes sont réprimés reproductivement (Fitzpatrick et al. 2006, Heg 2008). En grandissant, les AR augmentent aussi leur risque d'être expulsés (Skubic et al. 2004).

En contrepartie de leur coopération, des bénéfices directs sont aussi obtenus par les AR. Les subordonnés reçoivent la protection des dominants et l'accès à un abri, ce qui est particulièrement avantageux jusqu'à ce qu'ils soient moins susceptibles à la prédation, soit vers l'atteinte de 4,5 cm de longueur (Taborsky 1984). Également, les AR femelles parasitent occasionnellement la reproduction de la femelle dominante de leur groupe en nature (Stiver et al. 2009) et les deux sexes le font en laboratoire (Dierkes et al. 1999, Heg et al. 2009). Par contre, il a été montré en laboratoire que les femelles subordonnées subissent des conséquences lorsqu'elles parasitent la reproduction de la femelle dominante, leurs œufs étant mangés par la femelle dominante (Heg et Hamilton 2008). L'un des avantages directs à la coopération pourrait donc être d'accaparer une part de la reproduction des dominants, donc de « payer-pour-se-reproduire ». Cette affirmation serait potentiellement corroborée par le fait qu'un subordonné occupe souvent un sous-territoire, au sein du territoire du groupe social, qu'ils défendent activement (Werner et al. 2003).

Plusieurs hypothèses ont été explorées pour expliquer les bénéfices directs et indirects de la coopération des AR chez *N. pulcher*.

1.4.4. Conditions remplies pour la sélection de parentèle

Le degré d'apparentement des subordonnées avec les dominants de leur groupe, de manière plus importante avec la femelle dominante, est corrélé négativement avec la taille des subordonnés (Dierkes et al. 2005, 2008, Stiver et al. 2005). Si la sélection de parentèle est présente chez cette espèce, elle s'effectuerait donc plus fortement sur les subordonnés de petite taille que de plus grande taille. Par contre, Stiver et al. (2005) ne trouvent pas de lien entre le niveau de comportements coopératifs effectué par les AR et le niveau d'apparentement avec les dominants ou les autres membres du groupe.

1.4.5. Conditions remplies pour l'hypothèse de l'augmentation de la taille du groupe

Un avantage majeur de l'augmentation de la taille du groupe social chez *N. pulcher* est la présence d'individus apparentés au sein du groupe. Cet apparentement étant plus important au sein d'un groupe social qu'avec les groupes voisins (Dierkes et al. 2005, Stiver et al. 2008), on peut en déduire que plusieurs jeunes nés dans un groupe y demeureront comme AR. Ainsi, puisque la présence d'AR augmente la survie des jeunes au sein du groupe (Taborsky 1984), la coopération pourrait servir à augmenter la taille du groupe. Il est aussi avantageux de vivre dans un groupe comptant plus de membres puisque la survie y est meilleure due à une prédation inférieure que dans les groupes plus restreints (Heg et al. 2004a, 2005). De plus, les individus s'alimentent plus fréquemment et effectuent moins de travail ou d'actes coopératifs dans les larges groupes que dans les petits groupes (Balshine et al. 2001). Également, les femelles subordonnées héritent plus fréquemment de la position dominante au sein de leur groupe social dans les grands groupes que dans les groupes plus petits (Balshine et al. 2001, Dierkes et al. 2005). Finalement, la composition des grands groupes est plus stable d'une année à l'autre (Heg et al. 2005). Cette stabilité pourrait refléter une hiérarchie de dominance plus stable dans les groupes comptant plus de membres, expliquant l'héritage de ces territoires par des femelles subordonnées provenant de ces groupes. Cet héritage plus fréquent dans les larges groupes pourrait aussi être dû au fait que ces groupes comptent plus de subordonnés de taille à hériter du territoire que les groupes plus restreints.

1.4.6. Conditions remplies pour l'hypothèse du « payer-pour-rester »

La longévité de *N. pulcher* est en moyenne de 3 ans alors qu'ils peuvent se reproduire à tous les un ou deux cycles lunaires (Balshine et al. 2001, Sopinka et al. 2009). Cet état permet de considérer l'hypothèse du « payer-pour-rester » puisque les

individus peuvent se permettre de retarder le début de leur reproduction après leur maturité.

Stiver et al. (2005) ont trouvé que les AR effectuent plus d'actes coopératifs dans des groupes sociaux formés d'individus non apparentés par rapport aux groupes apparentés. Cette étude suggère un coût pour les dominants d'avoir des AR non apparentés, par exemple sous forme de parasitisme de la reproduction. Bruintjes et Taborsky (2008) ont, quant à eux, montré que les gros AR aident plus que les petits. Plusieurs autres études ont été faites sur le sujet avec des résultats mitigés (Balshine-Earn et al. 1998, Bergmüller et al. 2005, Bergmüller et Taborsky 2005).

1.4.7. Conditions remplies pour l'hypothèse du prestige social

Les dominants sont capables de reconnaître individuellement les subordonnés de leur groupe, leurs partenaire sexuel et voisins grâce à des stimuli visuels et/ou chimiques (Hert 1985, Balshine-Earn et Lotem 1998, Frostman et Sherman 2004, Jordan et al. 2009). *N. pulcher* peut aussi reconnaître les individus qui lui sont apparentés, même s'ils ne lui sont pas familiers (Le Vin et al. 2010). Ainsi, cette espèce possède un système élaboré de reconnaissance des individus basé à la fois sur la familiarité et la reconnaissance des individus apparentés potentiellement par reconnaissance d'un phénotype semblable au sien. Ce système de reconnaissance est un pré-requis pour l'élaboration d'un prestige social basé sur la qualité et les motivations des individus (Buston et Balshine 2007, Zahavi 1995). L'établissement du système prestige social exige également le caractère coûteux du comportement coopératif. Grantner et Taborsky (1998) et Taborsky et Grantner (1998) ont démontré que l'un des comportements coopératifs, soit de retirer du sable de la chambre de reproduction, était coûteux énergétiquement, permettant ainsi de considérer les comportements coopératifs comme des signaux honnêtes de qualité.

En faveur de cette hypothèse, une étude de Bergmüller et Taborsky (2005) montre qu'en laboratoire, un subordonné que l'on empêche d'aider au sein de son groupe

augmente son niveau d'aide lorsqu'il en a la chance par la suite, par rapport à la quantité d'aide fournie initialement; ce pourrait être pour rétablir son prestige social.

1.4.8. Testostérone et dominance

Aubin-Horth et al. (2007) ont démontré qu'en laboratoire, les individus dominants ont un niveau de T plasmatique plus élevé que les subordonnés. Les femelles dominantes ont aussi un niveau de T plasmatique plus élevé que les mâles dominants, et les femelles subordonnées un niveau plus élevé que les mâles subordonnés. Les mêmes résultats ont été obtenus en milieu naturel (Desjardins et al. 2008b). Après le combat entre deux *N. pulcher*, Taves et al. (2009) ont démontré que les femelles gagnantes avaient de plus hauts niveaux de T plasmatique que les femelles perdantes. Il en est de même pour les femelles dont le territoire est menacé par un intru (Desjardins et al. 2005).

La T semble donc jouer un rôle comportemental plus important pour les femelles que pour les mâles chez *N. pulcher*. L'androgène actif serait la 11-kétotestostérone, qui est plus élevée dans le plasma chez les mâles que chez les femelles. Par contre, les résultats en laboratoire et en nature sont ambigus à ce sujet, le premier ne montrant aucune différence en terme de niveau de 11-kétotestostérone plasmatique entre les statuts sociaux (Aubin-Horth et al. 2007), alors que le second montre un niveau plus élevé chez les mâles dominants que subordonnés (Desjardins et al. 2008b).

1.5. Hypothèses et objectifs

Cette étude vise à découvrir les déterminants comportementaux, physiologiques et hormonaux qui pourraient expliquer l'identité de l'individu accédant à la dominance au sein d'un groupe social lorsqu'une opportunité survient. Pour se faire, nous utiliserons l'espèce *N. pulcher* puisque cette espèce exerce la reproduction coopérative et est bien décrite. Les espèces à reproduction coopérative sont de bons modèles pour les études

portant sur les changements de statut social puisque leurs groupes sociaux sont basés sur un système social hautement développé et une hiérarchie de dominance linéaire stable à long terme (Wilson 1975). De plus, nous utiliserons les femelles *N. pulcher* puisque, tel qu'expliqué précédemment, les femelles sont les plus agressives et travaillantes au sein des groupes sociaux Aubin-Horth et al. 2007, Desjardins et al. 2008a). Ce sont aussi elles qui ont le plus de bénéfices à être dominantes au sein d'un territoire puisqu'elles sont socialement monogames et demeurent en position dominante au sein d'un groupe social plus longtemps que les mâles (Balshine et al. 2001, Desjardins et al. 2008a). Ainsi, nous comparerons des groupes contrôles stables et des groupes dans lesquels nous retirerons la femelle dominante pour donner une opportunité d'ascension sociale aux femelles subordonnées du groupe, et ce en milieu naturel. Ces groupes seront observés avant l'opportunité sociale et après pour une période d'une semaine afin de trouver rétrospectivement les déterminants comportementaux et physiologiques des femelles subordonnées ascendant au statut dominant. Après une semaine, nous devrions voir des différences physiologiques et hormonales chez les femelles ascendantes puisque l'ascension complète à la dominance dure approximativement deux semaines (Sigal Balshine, communication personnelle). Il est donc raisonnable de penser qu'après sept jours, il serait possible de trouver un phénotype « intermédiaire » chez les femelles en ascension sociales par rapport aux femelles dominantes et subordonnées stables.

Quelques études ont été faites sur des groupes desquels on retire un ou des dominants (Hendricks et al. 1975, Mench et Ottinger 1991, Wingfield et al. 1992, Margulis et al. 1995, Clarke et Faulkes 1998, Less et al. 2010) tel que mentionné précédemment. Par contre, toutes ces études sauf une (Wingfield et al. 1992) ont été menées en captivité et aucune ne trouve de déterminants comportementaux à l'ascension sociale. Ce sont surtout les variations dans les niveaux hormonaux (Mench et Ottinger 1991, Wingfield et al. 1992) et quelques déterminants physiologiques, masse et âge, qui y sont retrouvés (Clarke et Faulkes 1998). Ces études sont aussi majoritairement basées sur la dynamique du groupe après le retrait d'un individu dominant; trouvant

majoritairement des effets globaux, tel que l'augmentation de l'instabilité et des agressions au sein du groupe (Hendrichs et al. 1975, Mench et Ottinger 1991, Wingfield et al. 1992, Less et al. 2010) plutôt que des changements individuels chez les membres du groupe. Une seule de ces études utilise exclusivement des femelles (Margulis et al. 1995) et découvre que les femelles rat-taupe nu subordonnées ne sont plus réprimées reproductivement après le retrait du mâle et de la femelle dominants du groupe et que l'ovulation pourrait faciliter l'agressivité intra-sexuelle. Quelques réserves peuvent être émises sur cette étude puisqu'elle a été faite en captivité, que le mâle et la femelle dominants sont retirés en même temps, ce qui ne reflète pas nécessairement une situation naturelle et que les comportements coopératifs ne sont pas mentionnés. La seule étude effectuée en nature, quant à elle, porte sur les mâles mahali à sourcils blancs (Wingfield et al. 1992) et ne découvre aucun changement de dominance chez les AR mâles puisque ce sont des mâles de l'extérieur du groupe qui en deviennent dominants.

Notre étude sera donc innovatrice puisqu'elle permettra de découvrir les déterminants comportementaux, physiologiques et hormonaux permettant l'ascension sociale chez les femelles subordonnées *N. pulcher*. Nos hypothèses sont que les femelles subordonnées coopérant le plus au sein de leur groupe social devraient avoir plus de chance d'hériter de la position dominante de leur groupe lorsqu'une opportunité se produit. Physiologiquement, ces femelles devraient être les plus grosses femelles subordonnées (Bender et al. 2008, Fitzpatrick et al. 2008). L'importance des déterminants sera évaluée à l'aide de la p-valeur (probabilité).

L'étude des déterminants de l'ascension sociale devrait aussi nous permettre de corroborer l'une des hypothèses expliquant la reproduction coopérative, plus vraisemblablement l'hypothèse du « payer-pour-rester » ou du prestige social selon nos connaissances actuelles sur *N. pulcher*. De plus, nous pourrions déterminer les changements comportementaux se produisant chez les femelles au cours de cette semaine d'ascension sociale de la nouvelle femelle dominante. Au cours de l'ascension, nous devrions voir une augmentation des interactions sociales de la femelle dominante

avec le mâle dominant. De plus, les femelles devraient être plus agressives durant cette semaine puisque la compétition devrait être accrue pour la position dominante; selon l'hypothèse du prestige social.

Les différences entre plusieurs niveaux de stéroïdes entre les statuts sociaux, subordonnés et dominants, et entre les sexes chez *N. pulcher* sont connues en milieu naturel (Desjardins et al. 2008b). Par contre, ces niveaux hormonaux sont inconnus au moment de l'ascension sociale. Nous allons donc comparer le niveau de testostérone plasmatique entre les femelles dominantes et subordonnées stables et les femelles en ascension sociale depuis 7 jours afin de compléter ce portrait hormonal. Cette mesure pourrait aussi aider à comprendre les mécanismes hormonaux de l'ascension sociale elle-même. Théoriquement, le niveau de T plasmatique devrait être plus élevé chez les femelles en ascension sociale que chez les femelles subordonnées.

Finalement, les différences d'expression de plus de 10 000 gènes dans le cerveau entre les femelles de statuts sociaux stables (dominant et subordonné) et de femelles en cours d'ascension à la dominance seront mesurées. Ces résultats seront préliminaires mais formeront une liste de gènes candidats impliqués dans l'ascension à la dominance. Ces gènes pourraient être ensuite étudiés chez d'autres espèces en lien avec l'ascension sociale ainsi que dans une optique de troubles de la socialité chez les humains. Ces résultats préliminaires seront présentés dans l'**Annexe 2**.

2. Matériel et méthodes

Veillez noter que cette section consiste en un complément d'information de la section « Methods » de l'article « Impacts of cooperation and body size on dominance ascension in a social fish » situé dans la section Résultats de ce mémoire. La lecture préalable de la section méthodes de cet article est encouragée.

2.1. Données comportementale et physiologiques

2.1.1. Identification et sélection des groupes

L'étude eut lieu au cours d'une saison d'échantillonnage entre le 26 septembre et le 16 octobre 2008 à Kasakalawa Bay, au lac Tanganyika (Zambia 8.5°S, 31.05°E). Du 26 septembre au 4 octobre, plusieurs sous-populations de *N. pulcher* furent redécouvertes et cartographiées approximativement (**Figure 2.1, Figure 2.2.A.**). En effet, ces populations sont connues et étudiées depuis plus d'une décennie (Balshine-Earn et al. 1998). Les territoire des groupes présentant une composition intéressante pour notre étude, soit contenant deux subordonnés matures (>3,5 cm Stiver et al. 2006) ou plus, étaient cartographiés (**Figure 2.2.B.**).

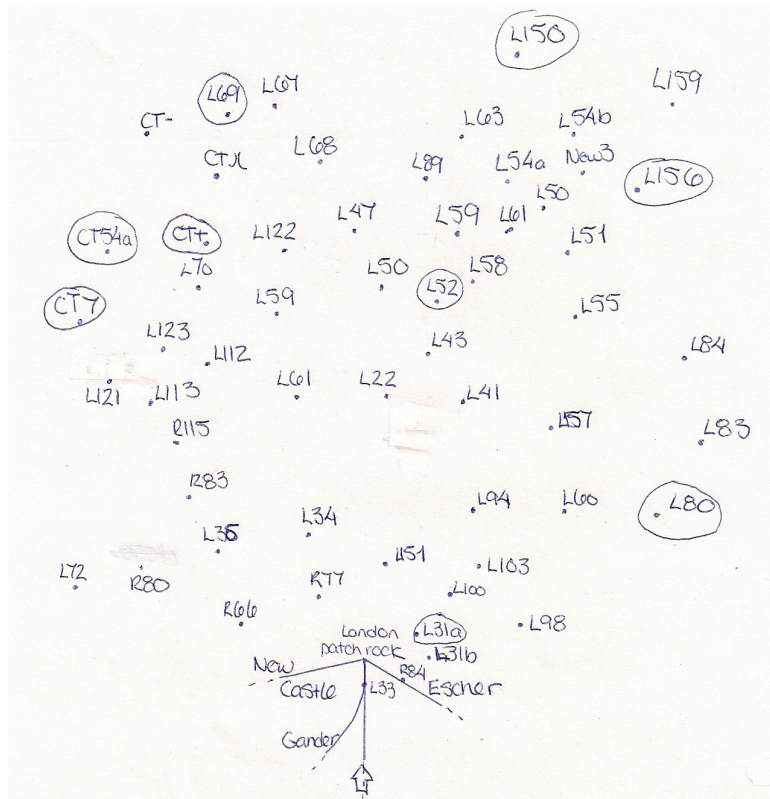


Figure 2.1. Carte approximative des groupes de la sous-population New Castle.

Chaque point accompagné de lettres et de chiffres représente la roche identifiant le territoire d'un groupe par l'abréviation de la sous-population à laquelle il appartient (ici L pour London) et le numéro spécifique qui lui est associé. Les territoires encadrés représentent les groupes utilisés dans cette étude. Les lignes représentent des cordes servant de repaire visuel au plongeur.

2.1.2. Marquage des individus

Quelques individus par groupe sélectionnés étaient attrapés et marqués par une combinaison individuelle d'une ou deux marques de nageoire et/ou d'une ou deux injections d'élastomère (**Figure 2.3**). Les poissons étaient capturés à l'aide d'un filet maillant placé de manière à encercler le territoire et de puisettes. Les poissons étaient ensuite placés individuellement dans des sacs à larges mailles nous permettant de les manipuler sans les sortir du sac. Le sexe des individus fut déterminé par l'examen visuel de la papille uro-génitale.

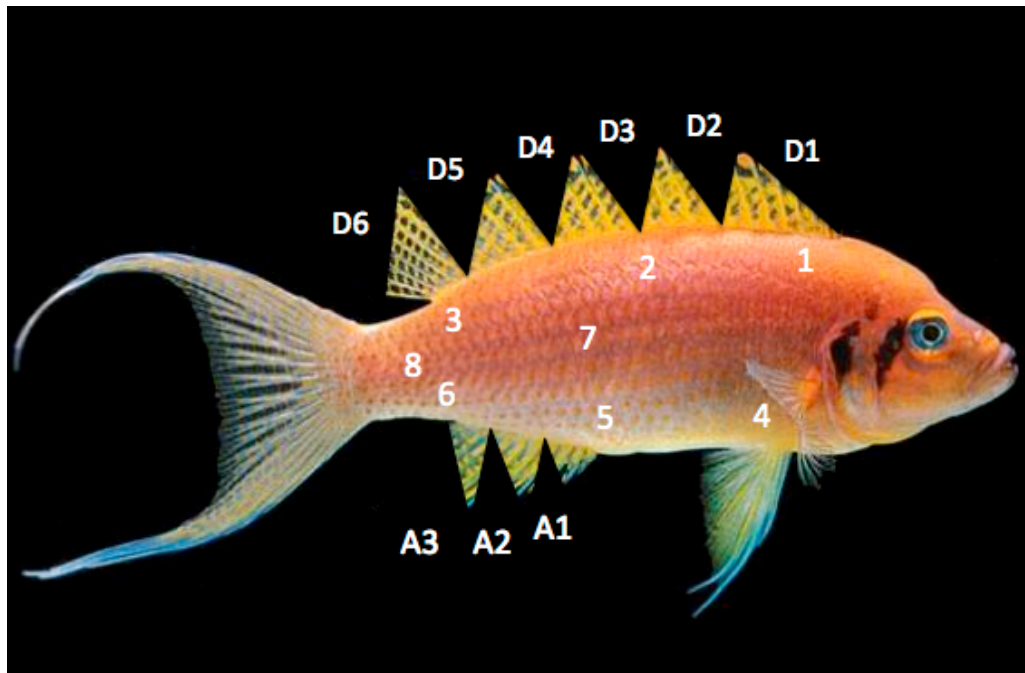


Figure 2.3. Marquage des individus.

Les marques D1 à D6 et A1 à A3 consistent à couper une petite portion de la nageoire dorsale ou anale respectivement. Les marques 1 à 8 sont faites par injection sous-cutanée d'élastomère rose, orange, jaune ou blanc. Chaque individu ne reçoit qu'un maximum d'une ou deux marques de nageoire pouvant être combinée à une ou deux injections d'élastomère.

2.1.3. Observations comportementales

Les 10 paires de groupes choisis, chaque paire comprenant un groupe contrôle et un groupe traité, étaient réparties entre les cinq observateurs. Ainsi, chaque observateur se voyait assigner deux paires pour toute la durée de l'expérience pour minimiser l'effet de l'observateur sur les fréquences comportementales observées. Au sein d'une paire, les observations se déroulaient toujours la même journée pour minimiser l'effet du jour sur les fréquences comportementales observées.

2.1.4. Collecte des mesures physiologiques et des échantillons

Lors de la collecte des femelles, au Jour 0 pour les femelles dominantes des groupes traités et au Jour +7 pour toutes les femelles subordonnées et les femelles dominantes des groupes contrôles, les femelles étaient capturées de la même manière que pour le marquage, placés dans les sacs à larges mailles et ramenés progressivement vers la surface. Ils étaient alors libérés dans un baril d'environ 50 L et sacrifiés dans les deux heures suivantes. Le sacrifice se faisait par un coup à la tête suivie de l'exsanguination des poissons.

2.2. Hiérarchies de dominance

Les hiérarchies de dominances étaient calculées à l'aide de l'indice de linéarité h' suivi, dans le cas où la linéarité était suffisante, du calcul de la hiérarchie de dominance par la méthode I & SI (**Figure 2.4**). Un ordre Hamiltonien signifie qu'il n'existe pas de paires d'individus de rang de dominance adjacents qui soit inconsistent avec la hiérarchie de dominance finale (pas d'inconsistances au sein de la hiérarchie). Une inconsistance se retrouve lorsqu'entre deux individus adjacents dans la hiérarchie sociale, celui qui a été classé à un rang supérieur se retrouve dans une position subordonnée à l'autre individu qui possède un rang inférieur (De Vries et Appleby

2000). Par exemple, un individu de rang de dominance 3 se retrouvant devant l'individu de rang de dominance 2 au sein de la hiérarchie constitue une inconsistance.

Jour -1

Groupe CT7		^a Int. perdues				Somme ^b G	G - ^c P
		MD	FD	S1	S2		
Int. gagnées	^d MD	0	2	2	2	6	4
	^e FD	2	0	3	4	9	6
	^f S1	0	1	0	3	4	-2
	^g S2	0	0	1	0	1	-8
Somme P		2	3	6	9		

^aInt : Interaction^bG : Interactions gagnées Statistique h' : 0,90

Méthode I & SI:

^cP : Interactions perdues

Nombre d'inconsistances: 0

^dMD : Mâle dominant

Amplitude des inconsistances: 0

^eFD : Femelle dominante^fS1 : Subordonné en première position

Cet ordre est hamiltonien.

^gS2 : Subordonné en deuxième position

Hiérarchie finale: BM BF H1 H2

Figure 2.4. Calcul de la hiérarchie de dominance pour un groupe.

Exemple des statistiques concernant la hiérarchie de dominance obtenues pour le groupe CT7 au jour expérimental -1. La statistique $h' \geq 0,8$ nous permet d'utiliser la méthode I & SI pour mesurer la hiérarchie de dominance avec 10 000 itérations.

2.3. Mesure de la testostérone plasmatique

2.3.1. Extraction des stéroïdes du plasma

Le plasma des échantillons de sang des poissons avait été préalablement prélevé avant la congélation des échantillons à l'aide de micro-capillaires. Les poissons n'ont fourni que quelques microlitres de plasma par individu, nous forçant à procéder à l'extraction préliminaire des stéroïdes du plasma avant de procéder à l'immunoessai enzymatique (IEA). Cette extraction était faite en faisant passer le plasma dilué dans de l'eau distillée autoclavée dans une cartouche C18 à l'aide d'une chambre à pression négative (**Figure 2.5**). En premier lieu, les cartouches étaient activées et équilibrées avec 4 mL de méthanol et 4 mL d'eau distillée autoclavée. En second lieu, l'échantillon, 2 μ L de plasma, était dilué dans 15 mL d'eau distillée autoclavée et filtré par la cartouche, suivi de deux fois 2 mL d'eau distillée autoclavée. L'élution de la cartouche était faite à l'aide de deux fois 2 mL d'éthyl acétate. Durant l'extraction, le flot de solvant passant par la cartouche variait entre 2 et 10 mL/min. En troisième lieu, les hormones stéroïdes resuspendues étaient séchées sous un léger jet d'azote gazeux alors que les éprouvettes contenant les échantillons étaient dans un bain-marie à 45°C. Finalement, les échantillons étaient resuspendus dans 350 μ L d'une solution tampon d'IEA avec 5% d'éthanol. L'éthanol aide à l'efficacité de la resuspension des stéroïdes en milieu aqueux (Newman et al. 2008). Puisque la chambre à pression négative ne permet d'extraire que 12 échantillons à la fois, il a été nécessaire de séparer les échantillons en deux lots de dix et 11 échantillons mélangeant des individus dominants, ascendants et subordonnés. La quantité de testostérone extraite ne différait pas entre les deux lots d'extraction (Lot 1: $5,356 \pm 6,269$ ng/mL, Lot 2: $6,332 \pm 5,133$ ng/mL; Wilcoxon signed-rank test, $W=41$, $p=0,55$). Le taux de récupération du pic de testostérone (« spike ») était de 99,6%, donc la quasi-totalité des stéroïdes étaient extraits et recapturés des cartouches C18.

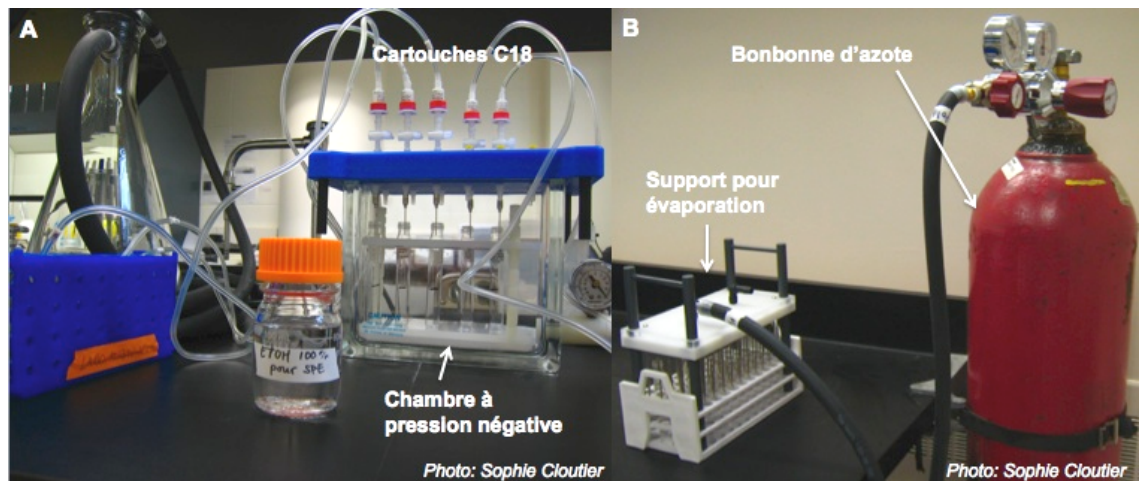


Figure 2.5. Montage pour extraction en phase solide.

A. Montage lors de l'élution des cartouches C18. La chambre à pression négative permet d'aspirer l'échantillon dilué dans de l'eau distillée autoclavée qui passe dans la colonne C18 qui retient les stéroïdes. L'élution se fait par la suite dans deux fois 2 mL d'éthyl acétate. **B.** Montage lors de l'évaporation des échantillons élués sous un léger jet d'azote gazeux.

2.3.2. Immunoessai enzymatique

Un test de dilutions (1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, 1:640; 1:1280) a permis de déterminer la meilleure dilution à utiliser pour que les valeurs extrêmes attendues se situent entre les 20 et 80% B/B0 de la courbe standard de la plaque d'IEA de la testostérone tel que recommandé par le fabricant (Cayman Chemical, <http://www.caymanchem.com/pdfs/582701.pdf>), allant de 3,91 à 500 pg/mL. Les valeurs extrêmes se retrouvant dans nos échantillons ont été estimées respectivement à l'aide d'un mélange de plasma de plusieurs femelles exclusivement dominantes et exclusivement subordonnées. Les résultats obtenus aux tests de dilutions (valeurs extrêmes multipliés par le facteur de dilution: 2,018 et 7,681 ng/mL) ont permis de conclure que la dilution 1:160 était optimale. Cette dilution fut changée à 1:200 pour simplifier le pipetage de petits volumes. Vu la difficulté à comparer les résultats entre deux plaques aux courbes standards légèrement différentes (observations personnelles de Nadia Aubin-Horth et Sophie Cloutier) et le nombre limité d'échantillons de femelles ascendantes, une seule plaque d'IEA de testostérone fut faite. Cette plaque unique nous a permis de comparer directement sept femelles dominantes stables, sept femelles ascendantes et sept femelles subordonnées stables. Le niveau de T présent dans l'eau distillée autoclavée, mesurée à 2,5 pg dans le volume de dilution à l'aide d'un puits contenant un blanc, était négligeable.

2.4. Statistiques

2.4.1. Analyses en composantes principales

Deux analyses en composante principale (ACP) furent utilisées. La première montrait la répartition des femelles des différents statuts sociaux en fonction de leur niveau respectif de testostérone plasmatique, leurs fréquences comportementales (moyennes des fréquences pour une période de 10 minutes pour l'observation am et pm d'une même journée) et leurs mesures physiologiques. La seconde montre les

corrélations entre le descripteur explicatif hormonal (testostérone), comportementaux et physiologiques. Seules les femelles pour lesquelles le niveau plasmatique de testostérone avait été mesuré ont été représentées dans l'ACP. Les fréquences comportementales utilisées auront été prises au jour expérimental +6 alors que les mesures physiologiques et le niveau de T plasmatique auront été mesurés au jour expérimental +7. Ces dix-neuf descripteurs utilisés pour faire l'analyse en composantes principales correspondaient à 13 fréquences comportementales, cinq mesures physiologiques et une mesure d'hormones plasmatiques. Les fréquences comportementales incluaient : les agressions reçues par le poisson focal (Ar), les agressions données par le poisson focal (Ad), les subordinations reçues (Sur), les subordinations données (Sud), l'indice de dominance (ID), l'indice social (IS), l'indice de dominance total (indice de dominance + IS; IDt), les interactions sociales avec le mâle dominant (IMD), l'indice de coopération (Coop), le temps passé dans la chambre de reproduction (Cht), l'alimentation (Ma), le grattage (G) et l'activité totale (AT; somme de la fréquence de tous les comportements exercés par le poisson focal, y compris les comportements rares). Les mesures physiologiques comportaient : la longueur standard (LS), la masse (Ms), l'indice gonado-somatique (IGS), l'indice hépato-somatique (IHS) et le facteur de condition de Fulton (FCF). La mesure d'hormone plasmatique est la testostérone en pg/mL (T).

La première représentation de l'ACP, appelée cadrage de type 1 (cadrage 1), permet de conserver les distances euclidiennes entre les femelles et donc de représenter visuellement la répartition des femelles des différents statuts sociaux selon les axes sur lesquelles elles se dispersent le plus (axes de variance appelés composantes principales, CP). Les axes principaux représentent des axes composites de descripteurs expliquant une portion plus ou moins grande de la variance. Les données seront centrées et réduites puisque les descripteurs ont été mesurés en utilisant des unités différentes.

La seconde représentation de l'ACP, appelée cadrage de type 2 (cadrage 2), permet de représenter visuellement la corrélation entre les descripteurs. Pour ce faire, il faut porter attention à l'angle entre les vecteurs des descripteurs. Les descripteurs sont

représentés sous forme de vecteur, dont le nom du descripteur constitue l'apex, ce qui permet de visualiser leur implication dans chacun des axes. Des angles de 0°, 180° et 90° entre les vecteurs des descripteurs démontrent respectivement une corrélation parfaite, une corrélation négative parfaite et une absence de corrélation entre les descripteurs.

L'analyse en composante principale en cadrage 2 nous permet d'identifier les descripteurs qui contribuent le plus à l'axe des composantes principales. En effet, plus la composante du vecteur d'un descripteur se reflétant sur l'axe d'une CP est « longue », plus le descripteur associé contribue à la CP. Par exemple, la CP1 étant représentée sur l'axe des abscisses, le vecteur du descripteur ayant la composante la plus longue sur l'axe des abscisses contribuera le plus à cette CP pour expliquer la dispersion des objets (femelles). La contribution attendue de chaque vecteur est calculée comme étant $\sqrt{d/p}$ où d représente le nombre de dimensions représentées sur l'ACP en cadrage 2 et p le nombre d'axes principaux totaux, soit le nombre de descripteurs utilisés (Legendre et Legendre 1998). Si la composante d'un vecteur excède cette valeur sur l'une des CP représentées, alors le descripteur associé contribue significativement à cette CP.

2.4.2. Corrélations de Kendall et de Pearson

À partir de l'analyse en composantes principales avec le cadrage de type 2, des corrélations de Kendall (Kendall's rank correlation tau), pour les distributions non normales, et de Pearson (Pearson's product-moment correlations), pour les distributions normales, seront effectuées entre les descripteurs (Kendall 1955). Le seuil de signification est de 0,05 ou moins. Les corrélations seront faites avec la console R version 2.7.1 (R Development Core Team 2009).

3. Résultats

3.1. Reaching for the top, impacts of cooperation and body size on dominance ascension in a social fish (article en rédaction)

Sophie St-Cyr¹, Marian Y. Wong², Susan Marsh-Rollo², Jennifer O. Reynolds³, Nadia Aubin-Horth^{1,4}, Sigal Balshine².

¹. Biological Sciences Department, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada.

². Animal Behaviour group, Departement of Psychology, Neuroscience & Behaviour, McMaster University, Hamilton, Ontario, Canada.

³. Vancouver Aquarium, Vancouver, British Columbia, Canada.

⁴. Biology Department, Institute of Integrative and Systems Biology, Université Laval, Quebec city, Québec, Canada.

Corresponding authors: Sigal Balshine, Nadia Aubin-Horth.

3.1.1. Abstract

Although social rank is known to have a strong influence on fitness, factors affecting rank and changes in rank remain poorly understood. In addition, studies of dominance and its relation to aggression rarely focus on females. We address these issues in this study using *Neolamprologus pulcher*, a cooperatively breeding cichlid species from Lake Tanganyika. The probability of social ascension was manipulated in the field and the physiological and behavioural changes as well as plasma testosterone level associated with subordinate female ascension were characterized. Before the social ascension opportunity, we found that both body size and helping effort (degree of cooperation) were greater in ascending versus non-ascending females. During ascension, females did not differ behaviourally but were physiologically different (higher body condition, smaller, lighter) from dominant females. Furthermore, dominant females, ascending females and subordinate females did not differ in plasma testosterone levels. Understanding the benefits of helping behaviour for subordinates has long been an evolutionary challenge and our results imply that this costly metabolic behaviour may have been selected by enhancing future fitness via territory and rank inheritance. Helping effort could be a signal of quality detected by both competitors and collaborators.

Keywords

social position, dominance rank, hierarchy, cooperation, testosterone, Cichlidae, *Neolamprologus pulcher*, Lake Tanganyika

Running Head: Cooperation and body size predict social ascension in a cichlid fish.

3.1.2. Introduction

Social position has a profound effect on one's ability to acquire resources, attract mates and survive. The far-reaching fitness consequences of dominance rank are thought to be proximately mediated and animals of higher rank has been shown to have lower stress, better growth, greater learning performance, a healthier immune system and longevity (stress and immune system: Costa-Pinto et al. 2009; growth: Russel et al. 2004; learning: Smith et al. 2010; longevity: Blanchard and Blanchard 1990). Although behavioural, physiological, and even molecular differences between dominant versus subordinate individuals have been well characterized across a wide variety of species (fishes: Renn et al. 2008, Buchner et al. 2004, Semsar and Godwin 2003; amphibia: Chu et al. 1998; reptiles: Hattori and Wilczynski 2009; birds: Ardia et al. 2010; mammals: Clutton-Brock et al. 2001, Morgan et al. 2000, O'Riain et al. 2000; insects: Whitfield et al. 2003, Wilson 1971), the process by which social change takes place is still poorly understood and predictors of future social rank remains largely unknown.

Serious social conflicts can occur over rank and reproduction but more often than not aggression is minimized in stable dominance hierarchies. Factors known to influence the outcome of contests over social position include age, body mass, parents' social rank, hormone levels and individual quality (Robert et al. 1971, Côté 2000, Buchanan et al. 2003, Roberts et al. 2004, Altmann and Alberts 2005, Archie et al. 2006, Dloniak et al. 2006, Paull et al. 2010). In many species, competitive ability relies primarily on body size, and body size will dictate social position. In such animal societies, a premium is placed on somatic growth but growth and body mass can be socially regulated. By not disrupting the precarious balance of social order, growth regulation can promote group cohesion (Buston 2003, Wong et al. 2008). Individuals may inflict growth suppression on themselves or instead, growth may be suppressed by a more dominant individual in the group. Self-controlled growth regulation imply to stop or slow growth and can lead to reduced punishment, such as eviction, from dominants (Buston 2003, Heg et al. 2004, Wong et al. 2008). Based on this theory, we first predicted that changes in social rank

would result in changes in somatic growth. Specifically we predicted that animals of previously low rank that ascend in status would show increased growth.

Testosterone (T) is an androgen steroid hormone whose level has been shown to vary according to male social status and aggression level (Done and Heatwole 1977, Searcy and Wingfield 1980, Cardwell and Liley 1991). More recently, testosterone was also associated with female aggression and social status in some species (Munro and Pitcher 1985, Mays et al. 1991, Poiani and Fletcher 1994, Beehner et al. 2005, Desjardins et al. 2008b). Second, we predicted that previous subordinate females that ascend in rank would have therefore higher levels of plasmatic T than subordinates.

Allocare, joint territory defence and group hunting are forms of cooperation commonly observed in highly social species. These forms of cooperation may have been selected because such help is costly and signals individual quality (Zahavi 1995); if so, individuals who are more active helpers are most likely to inherit a top social rank or breeding position. Third, we predicted that individuals who are more active helpers, possibly reflecting their individual quality, would inherit a top social position when such a vacancy was experimentally generated.

We tested the above predictions using a group-living cichlid fish from Lake Tanganyika, *Neolamprologus pulcher*, a species that guards eggs and young on the substrate, is highly territorial and forms groups ranging from 3 to 20 individuals (Balshine et al. 2001) and comprising a large, dominant breeding pair and up to 20 subordinates. Subordinates of all size, including sexually mature individuals, are also called helpers because they improve the reproductive success of the breeding pair and help by cleaning eggs and removing snails and sand from the brood chamber and by protecting the territory from cons- and heterospecifics intruders (Taborsky 1984, Balshine-Earn et al. 1998, Brouwer et al. 2005). The breeding pair is dominant to all the subordinate helpers and the helpers form a dominance hierarchy (a social queue to breed) largely dependent on body size (Bender et al. 2008, Fitzpatrick et al. 2008). Social ascension takes place rapidly after the removal of a more dominant fish

(Balshine-Earn et al. 1998, Stiver et al. 2006, Fitzpatrick et al. 2008). Typically, female subordinates inherit the natal territory and a breeding position more often than males who tend to disperse to find a dominant status in a new territory (Stiver et al. 2004, 2007, Balshine and Buston 2008).

Interestingly, *N. pulcher* dominant breeding females are the most aggressive individuals in the group, and have significantly higher levels of testosterone (Desjardins et al. 2008b) and arginine vasotocin (Aubin-Horth et al 2007), a neurohormone functionally linked to territoriality and aggression in fish but usually considered to have more powerful effects on male behaviour (Moore et al. 1992, Bamshad et al. 1993, Godwin et al. 2000), than on the dominant females and helpers. Most studies on changes in dominance rank have been conducted to date with males (Chu et al. 1998, Hattori and Wilczynski 2009). Clutton-Brock et al. (2006) showed that intrasexual competition varies between sex in wild meerkats, a cooperatively breeding species. These pressures differing between sex within species consequently lead to different secondary sexual characters (Clutton-Brock et al. 2006). In this species, dominance within a group brings higher benefits in females than in males, notably because of the longer tenure of females as *N. pulcher* dominant females (Stiver et al. 2004). Females are therefore particularly interesting in the next generation of sex-based dominance studies. *N. pulcher* females' highly aggressive nature provided a useful opportunity to explore the factors important in female social ascension. In this study, we experimentally manipulated the opportunity to ascend in rank. By generating an opportunity of social ascension in *N. pulcher* by removing dominant breeders in natural groups in the wild, we explored the factors influencing social rank ascension and report what behavioural, morphological and physiological changes occur in the short term as a consequence of social change.

3.1.3. Methods

Study site and group selection

The study was conducted between September 26th and October 16th 2008 in Kasakalawa Bay, Lake Tanganyika (Zambia 8.5°S, 31.05°E). Twenty social groups of *N. pulcher* with two or more large sexually mature subordinate female helpers (>3.5 cm, Stiver et al. 2006) were located at 9-12.5 m depth using SCUBA (for further information on the study site and field methods employed see Balshine et al 2001, Fitzpatrick et al. 2006, Stiver et al. 2007). Using nets and clear PVC tubes, subordinates and dominants in these groups were caught, sexed, measured and marked. A unique combination of fin clips and subcutaneous non-toxic elastomere paint marks on each fish facilitated individual identification during subsequent behavioural observations. These markings did not have adverse effects on fish and, following marking, groups were always left undisturbed for at least 24 hours before beginning experimental observations. Based on two or three five-minute observation periods per group, we assessed the total number of individuals in each group, and each individual's body size and relative position in the group's dominance hierarchy.

Experimental design

Observations were made on the dominant male and female breeders and on the two largest subordinate helpers in each of the 20 groups. Groups were matched into pairs in terms of physical location within the study area and group size. One group in each pair was randomly assigned to the removal treatment and the other group to the control treatment. Observations were made for 10 minutes on all groups, twice a day, once in the morning and once in the afternoon on three separate days (Day -1, Day +1 and Day +6, **Figure 3.1**). Each observation was preceded by a two-minute acclimation period. We recorded the frequency of all behaviours (see Sopinka et al. 2009 for a recent, detailed ethogram of *N. pulcher*'s behavioural repertoire). Briefly, behaviours can be classified into four broad categories: 1) maintenance behaviours such as feeding; 2)

within-group dominance behaviours such as aggression and submission; 3) within-group non-aggressive social behaviours such as following and touching softly; and 4) help, care or work behaviours such as brood chamber visits, hovering over free-swimming young, digging and carrying sand and debris out of the brood chamber and defending against cons- and heterospecific intruders. The identity (in the case of conspecifics) or the species (in the case of heterospecifics) receiving behaviour from or performing behaviour towards the focal fish were also always noted.

On Day 0, the day following the first day of observations, the dominant females were captured and placed in a mesh bag in removal groups. These dominant females (N=10) were brought slowly to the surface and quickly sacrificed (Figure 1). On Day +1 and Day +6, behavioural observations were again conducted on the dominant breeding male, the two originally subordinate females, the original dominant breeding female (in control groups only) and on any new individual that had joined the group (this occurred in removal groups only). All observed fish were then caught on Day +7 and slowly brought to the surface. Fish were sacrificed and measured (standard body length, SL) to the nearest 0.1 mm and body mass to the nearest 0.1 g. The gonads and liver were removed and weighted at the nearest 0.001 g.

Blood sampling and plasmatic testosterone assay

Blood was sampled within three minutes of sacrifice using micro-capillary tubes and spun at 8000 RPM for 10 minutes. The plasma was then separated and stored at -10°C for a maximum of 50 days before being transported back to Canada at -4°C where it was stored at -80°C. Steroids from the plasma of each individual were extracted using Sep-Pak C-18 columns (Waters #WAT020515) and an Altech vacuum manifold (VWR #CABJ9400). Steroid hormones were resuspended in 4 mL of ethyl acetate, dried under a nitrogen flow using an Evap-o-rac (Cole-Parmer Co. #EW-01610-15) and resuspended in enzyme immunoassay (EIA) buffer with 5% ethanol. The hormone recovery after SPE was 99% as measured from a spike. Testosterone in the plasma was measured in

triplicate using a commercial enzyme immunoassay (EIA, Cayman chemical #582701) as per the manufacturer specifications with a final dilution of the plasma of 1:200. Optical density was measured at 412 nm using a Spectramax M2e microplate reader (Molecular Devices). Seven females of each social state were compared on the plate: ascending, stable dominant and stable subordinate. The reported testosterone levels are the average from the triplicate aliquots whose values fell within the 20-80% binding limits (B/B0) of the plate standard curve with a log-logit transformation. Assay coefficients of variation did not exceed 20%, except for one dominant female that was excluded from the analysis.

Estradiol plasmatic levels were measured using the same method. Unfortunately, the samples were resuspended and stored for an extended period which provided unusable results due to sample degradation.

Statistical Analyses

For each group, the focal behavioural observations were used to calculate a linear dominance index based on the Inconsistencies and Strength of Inconsistencies (I & SI) method (De Vries 1998). This method is based on a matrix of all observed individuals in the social group in which the columns represent lost interactions (aggressions received + submissions given), and the rows represent won interactions (aggressions given + submissions received). The I & SI method allows to calculate a dominance hierarchy to be calculated even when some individuals in a group do not interact with each other. This method makes only one assumption – that the hierarchy is linear. Linearity was therefore tested, using the h' index of linearity (where an h index of ≥ 0.8 is considered linear and > 0.9 strongly linear, De Vries 1995; Poisbleau et al. 2005). In some groups on some days, there were too few interactions or the linearity assumption was not met, so the I & SI method was complemented by calculating a Dominance Index (DI = [aggressions given + submissions received + non-aggressive social behaviours received] - [aggressions received + subordinations given + non-aggressive social behaviours given],

see Aubin-Horth et al. 2007 for another example of use of this index). Dominance hierarchies were calculated for each group based on observations from Days -1, +1 and +6. A Social Index (SI), [social behaviours received] – [social behaviours given] to evaluate variation in non-aggressive affiliative behaviours (which might vary differently than aggressive behaviour), a Work (or Workload) Index (WI), the sum of the work behaviours (defense, brood care and territory maintenance) performed and the total activity, the sum of maintenance, aggressive, submissive, non-aggressive and help behaviours, were also calculated to evaluate the impact of these behaviours on social dominance. These index were calculated to evaluate the impact of these behaviours on social dominance.

Gonadal investment for each individual was calculated using the gonadosomatic index ($GSI = \text{mass of the gonads} / \text{mass of the soma} [\text{body mass} - \text{the gonad mass}] * 100$) and liver investment was calculated using the hepatosomatic index ($HSI = \text{liver mass} / \text{body mass} * 100$). Fulton's condition factor (body condition), which is related to reproductive capacity, was calculated ($\text{body mass} / \text{standard length}^3$, Ricker 1975). We compared ascending, previously subordinate females ($N=7$), to stable dominant females ($N=20$, 10 from control groups and 10 from the removal treatment groups). We also compared ascending females ($N=7$) to non-ascending stable subordinate from control groups ($N=5$) and to subordinate females that did not ascend to breeder status in the removal treatment groups ($N=7$). Prior to the removals, there were no differences between the subordinate females in the control groups and the subordinate females in the removal groups in terms of dominance, work or social behaviour (paired t -tests: DI: $t = -1.4$, $df = 4$, $p = 0.23$, $pwr = 0.52$; WI: $t = -0.75$, $df = 4$, $p = 0.50$, $pwr = 0.05$; SI: $t = -0.77$, $df = 4$, $p = 0.48$, $pwr = 0.13$). Uneven sample sizes arose as a result of predation events during the experiment and underwater mis-sexing of some subordinates. Differences were considered significant at a p -value (p) of 0.05 or less. A power statistic value of 0.8 showed that the sample size was large enough to detect significant differences at the measured effect size. (Cohen 1977). R console version 2.7.1. (R Development Core

Team 2009) was used for all statistical analyses including paired and unpaired (Welch two sample) t -tests, unpaired and pairwise Wilcoxon signed rank tests with Bonferroni correction, ANOVA, Kendall's rank correlation, Pearson's product-moment correlations for normal distributions (Kendall 1955), Shapiro-Wilk normality tests and power analysis, which can only be applied on parametric tests).

3.1.4. Results

What happened in the removal groups?

No shifts in dominance were observed in control groups. In eight of the 10 removal groups, a subordinate helper female, the next in the dominance hierarchy, moved up in rank to the dominant breeding position by Day +1. In two of the ten removal groups, a female from outside the social group immediately took over the dominant position. In one of the eight removal groups where the subordinate ascended on Day +1, an unknown female from outside the group had moved in by Day +6, replacing the ascending subordinate female that was previously dominant on Day +1. We did not know the previous dominance status of the three new outsider females but we knew that they were not previous immediate neighbours. In one of the removal groups, there was an internal, within-group dominance upset: a female subordinate, previously in subordinate position 2 eventually (by Day +6) ascended, leaping over the female subordinate previously in subordinate position 1. This left a total of seven previously subordinate females who ascended to dominant breeder status within their group. There were no within group behavioural differences between the three females who did not ultimately ascend and the seven that did, nor were there differences in group size or male size (all unpaired Wilcoxon signed rank tests, $n1=3$, $n2=7$, $p>0.05$).

Following the dominant female removals, the dominance linearity and hence stability of the removal groups decreased (Day -1 mean h' index \pm se = 0.76 ± 0.22 vs. Day +1 = 0.57 ± 0.23 , paired Wilcoxon signed rank test; $V=28$, $n=10$, $p=0.04$). Six days after the removal, the average hierarchy stability had increased (0.65 ± 0.37) to an intermediate level, that was not significantly different from the stability values

calculated either before or directly after the removal. No changes in group stability were observed in control groups.

Did body size or helping behaviour influence ascension?

The largest female subordinate did not always ascend in rank. However, in general, within groups, body size predicted ascension in the removal groups, as ascenders (Asc) strongly tended to be heavier than non-ascenders (Asc: 3.56 ± 0.55 g, Non-ascenders: 2.80 ± 0.51 g; paired Wilcoxon signed rank test, $V = 1$, $n = 5$, $p = 0.06$; **Figure 3.2a**). In addition, females that ascended were always the more active helpers with a higher workload indice (prior to any removals) than non-ascenders from their group (Asc: 10.57 ± 4.29 , Non-ascenders: 5.65 ± 2.23 ; paired Wilcoxon signed rank test, $V = 24.5$, $n = 5$, $p = 0.05$; **Figure 3.2b**). The workload index of females from the three social statuses is significantly positively correlated with the social index of females (Kendall's rank correlation tau, $z = 2.1$, $\tau = 0.35$, $n = 20$, $p = 0.02$) but not to their dominance index ($z = 1.0$, $\tau = 0.17$, $n = 20$, $p = 0.2$). There is no significant correlation between body size and helping behaviour (Pearson's product-moment correlation, $t = 0.8$, $r = 0.19$, $df = 18$, $p = 0.21$, $pwr = 0.12$).

Did females that ascended in social status have higher plasma testosterone levels than stable subordinates?

Plasma T levels in ascending females (6.3 ± 5.7 ng/mL, $N = 7$) were similar to those observed in stable subordinate females (7.0 ± 7.5 ng/mL, $N = 7$) and dominant females (4.1 ± 2.7 ng/mL, $N = 7$; ANOVA, $F = 0.4145$, $p = 0.67$, $pwr = 0.35$; **Figure 3.3**). However, the variances in hormone levels were large in both subordinate and ascending females, compared to dominant females (**Figure 3.3**). T levels were negatively correlated to HSI ($z = -3.39$, $\tau = -0.62$, $n = 20$, $p = 0.0003$) on Day +7 but not to workload index ($z = -1.26$, $\tau = -0.28$, $n = 20$, $p = 0.11$) or dominance index ($z = -0.15$, $\tau = -0.02$, $n = 20$, $p = 0.56$) on Day +6.

Differences between ascenders, stable subordinates and stable dominant females

Stable dominant females were longer (about 0.5 cm) and heavier (about 0.82 g) than stable non-ascending subordinate female helpers (Welch's two sample t -tests, $N_{\text{dom females}}=20$, $N_{\text{sub females}}=19$: SL: $t= 4.3$, $p< 0.0001$, $pwr= 1$; body mass: $t= 4.1$, $p< 0.0001$, $pwr= 1$, **Figure 3.4a**). As expected, body mass positively correlated with standard body length (Pearson's correlation; $t= 10$, $r= 0.86$, $df= 39$, $p< 0.0001$, $pwr= 1$; see **Figure 3.4a**'s inset). Also, as expected, dominant females scored higher on the dominance index than did subordinate females (paired t -test; $t= 3.2$, $df= 17$, $p= 0.03$, $pwr= 1$; **Figure 3.4b**) and performed more non-aggressive social behaviours with other group members than subordinate females (Welch two sample t -test, $t= 4.0$, $df= 33$, $p= 0.0002$, $pwr= 1$; **Figure 3.4c**). Dominant females and subordinate females performed similar amounts of work (paired t -test; $t= -1.0$, $df= 20$, $p= 0.83$, $pwr= 0.93$).

A week after the removals, ascenders were of the same length as stable subordinates (paired t -test; $t= -2.1$, $df= 4$, $p= 0.05$, $pwr= 0.5$), but they had a significantly higher (3.5x) dominance index, a higher (1.25x) work index and a higher (1.3x) social index compared to non-ascenders in control groups (paired t -tests and unpaired Wilcoxon signed rank test; DI: $t= -2.6$, $df= 4$, $p= 0.03$, $pwr= 0.07$, WI: $t= -2.5$, $df= 4$, $p= 0.03$, $pwr= 0.07$; SI: $W= 4.5$, $n= 5$, $p= 0.02$; see **Figure 3.5a**). No other significant differences were observed between females that ascended and the stable subordinates in control groups that did not ascend (unpaired Wilcoxon signed rank tests; body condition: $W= 13$, $n1= 7$, $n2= 5$, $p= 0.53$; GSI: $W= 88$, $n1= 7$, $n2= 5$, $p= 0.11$; HSI: $W= 55$, $n1= 7$, $n2= 5$, $p= 0.26$). When we compared the ascenders with stable dominant females, we observed that ascenders were smaller, lighter but in better body condition than stable dominant females (Welch two sample t -tests; SL: Asc: 4.95 ± 0.28 cm, SD: 5.29 ± 0.25 cm; $t= 2.8$, $df= 10$, $p= 0.01$, $pwr= 1$; body mass: Asc: 3.24 ± 0.53 g, SD: 3.89 ± 0.31 g, $t= 2.67$, $df= 6$, $p= 0.02$, $pwr= 1$; body condition: Asc: 2.67 ± 0.28 , SD: 2.40 ± 0.25 ; $t= -2.3$, $df= 10$, $p= 0.02$, $pwr= 1$). Interestingly ascending females and stable dominant females were not significantly different in terms of gonadal and liver investment (Welch

two sample *t*-tests; GSI: Asc: 0.43 ± 0.44 , SD: 0.60 ± 0.34 ; $t = 0.95$, $df = 9$, $p = 0.18$, $pwr = 0.60$, HSI: Asc: 0.69 ± 0.27 , SD: 0.61 ± 0.16 ; $t = -0.7$, $df = 8$, $p = 0.25$, $pwr = 1$). By Day +6, the work index was significantly higher in ascenders than in stable dominant females (Asc: 8.79 ± 5.82 , SD: 3.86 ± 3.67 , paired *t*-test, $t = -2.17$, $df = 6$, $p = 0.04$, $pwr = 1$), while the dominance index and social index did not differ between ascenders and stable dominants (DI: Asc: 1.86 ± 2.01 , DomC: 1.25 ± 1.87 ; Welch 2 sample *t*-test, $t = 0.6$, $df = 12$, $p = 0.27$, $pwr = 0.09$; SI: Asc: 2.14 ± 1.21 , SD: 3.43 ± 4.33 , paired *t*-test, $t = 0.4$, $df = 6$, $p = 0.35$, $pwr = 0.5$; **Figure 3.5b**).

3.1.5. Discussion

Our study tracked the dynamic process of social ascension in 10 social groups. In 7/10 cases, the subordinate helper female next in line in the dominance hierarchy ascended to dominant breeding rank. In 1/10 case, there was a dominance upset, with the subordinate female in the next rank (position 2) leaping to take over the top breeding spot. In 3/10 cases, a strange female from outside the group took over the territory and the top social position either the first day or within the first six days after the opportunity of social ascension arose. Stability and dominance linearity decreased following the removal of the dominant female in all the experimental groups but conditions had begun to stabilize and return to control or pre-removal levels by Day +6. Six days after the removal, ascending females were smaller, lighter and in better condition than their group stable dominant breeding females had been. However, ascending females dominance indices had risen beyond levels observed in stable subordinate females to levels equivalent to those observed in stable dominant breeding females. Ascenders also performed significantly more social behaviour than both stable dominant and subordinate females and had a higher helping effort than stable dominant females. Therefore, after one week of social ascension, ascending females are still in the process of becoming dominant since they are distinct both behaviourally and physiologically from the stable dominant females.

The observations of focal females before removals indicated that two factors relate to future social ascension: body size and the high workload effort. Body size did not come as a surprise since it is an important component of dominance determination in many species (Clutton-Brock et al. 2006, Fitzpatrick et al. 2008, Archie et al. 2006, Paull et al. 2010) but why would more active helpers be more likely to ascend? This finding could confirm the ‘paying to breed’ hypothesis where cooperation may be selected because it eventually leads to breeding (Zahavi 1995). Heg et al. (2009) found that shared reproduction between dominant and large subordinate *N. pulcher* females correlated with the amount of alloparental care in the laboratory. However, we can hardly observe subordinate female reproduction in nature, therefore the social prestige hypothesis is appealing to explain our findings. The social prestige hypothesis is a diversion of the handicap theory that states that a detrimental behaviour could be selected to use as an honest individual quality indicator on which could be based a reputation called social prestige (Zahavi 1975, 1995). The subordinate female having the highest helping effort would therefore be better quality females who would inherit the dominant position when a social opportunity arises. The metabolic cost associated with help behaviours in *N. pulcher* (Grantner and Taborsky 1998, Taborsky and Grantner 1998) implies that helping could be used as an honest indicator of individual quality. Performing high levels of work, especially when observed by other individuals, could lead to an increase in social ‘prestige’ (Lotem et al. 1999 but see Wong and Balshine, in press). Buston and Balshine (2007) discussed the idea that cooperation for future benefits promotes the emergence of social recognition systems. The fact that *N. pulcher* are capable of recognition of individuals and kin help support the possibility of helping serving as a means of social prestige (Hert 1985, Balshine-Earn and Lotem 1998, Jordan et al. 2009, Le Vin et al. 2010).

Many of the differences uncovered between ascenders and stable dominants were clear only when we examined animals from the same social group. This suggests strong within-group effects and highlights the need to consider the social context when

perturbing the social landscape to untangle the various factors that are influencing ascension. Following the removals, ascending females dramatically increased levels of non-aggressive social behaviours. The social index being positively correlated with the helping effort of females, hence social or affiliative behaviours may play an important role in determining which female should become the next dominant breeding female in the group. The influence of the dominant male (at the top of the social hierarchy) in comparison to the other members of the group in the choice of the next female ascending in dominance within that group is currently unknown. No differences were observed between successful ascenders and females that did not ascend in terms of interactions with the dominant male or with the whole group. However, dominant males are present on the territory for only short periods (Desjardins et al. 2008a, Wong, in prep) and therefore her interactions with other group members are rather scarce. Additional work tracking these fish over a longer time course would be helpful in clarifying this issue. Also, in previous laboratory studies, stable dominant females have been shown to be physiologically and behaviourally (more aggressive) different than stable subordinate females (Aubin-Horth et al. 2007). Here, we confirm these findings based on wild fish in this field experiment.

In this study, testosterone levels did not differ between social statuses and did not correlate with the dominance index. In another field study on *N. pulcher*, with a much larger sample size, dominant females had significantly higher plasmatic T level than subordinate females (Desjardins et al. 2008b). However, in this study, ascending and subordinate females exhibited similar mean plasmatic T levels and, mostly, are highly more variable in subordinate (2.5 times) and ascending (2 times) females than in dominant females. However, these results seem to be confirmed by the negative correlation that we get between the plasmatic testosterone level and the mass of the females, dominant females being heavier than ascending and subordinate females. Plasmatic testosterone level is also positively correlated with total activity of the females, potentially because of the increase of testosterone after physical activity

(Schmidt et al. 1982, Esbjörnsson et al. 2009) rather than in link with the reproductive activity. Also, the sampling differs in Desjardins et al. (2008b) and the present study. Desjardins et al. (2008b) sampled only the most dominant stable subordinate of each social group while the stable subordinates of this study are mostly subordinates in the second position in the dominance hierarchy. These studies can therefore be complementary since the second stable subordinates are reproductively suppressed while first stable subordinates are possibly getting ready to become reproductively active. Finally, the negative correlation between T levels and HIS could also explain the results. Indeed, the breeding cycle as well as the liver investment in dominant females are based on the lunar cycle (Sopinka et al. 2009). Desjardins et al. (2008b) sampled their females across a period of approximately seven months. Our dominant females were sampled in a little more than a week, which means that we sampled near the middle of the lunar cycle where the liver investment is at its maximum while the T level is slowly increasing to reach a peak later in the cycle (Kime 1993, Sopinka et al. 2009). The mature subordinates and ascenders, that were less likely to be breeding at the time of this study, could therefore be more variable in their hormonal cycle.

In the future, it would be valuable to ascertain whether the strange take-over female came from territories within the colony or if they were truly “nomadic”. This could be investigated in a similar study using a larger sample size and using known microsatellites (Stiver et al. 2004) to determine the possible origin of these strange females. Also, studying ascension in a controlled laboratory environment would facilitate answering the question of how growth rates changed before, during and after social ascension. Such a growth study proved to be unfeasible underwater in a natural environment. Finally, workload manipulation studies might help pinpoint the degree to which workload itself was solely responsible for the leap of a female subordinate in position two over the first-position subordinate female in one of the groups. To our knowledge, this is the first study to explore the dynamics of social ascension in process in a vertebrate and in a wild setting.

3.1.6. Acknowledgements

This study was supported with funding by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada in the form of a grant to SB and NAH and a scholarship to SS; a Journal of Experimental Biology – Company of Biologists Ltd travelling fellowship to SS. This study was conducted with the permission of Dr. H. Phiri and Dr. Nagalda of the Zambian Ministry of Agriculture, Food and Fisheries and the Government of Zambia. We are very grateful to the staff of the Lake Tanganyika Department of Fisheries at Mpulungu for their cooperation in this study. We would like to particularly thank Enock, John and Maxwell Juma for their help in the field. We would also like to thank the staff from the Tanganyika lodge, Boniface the manager of the lodge and his family, Watson and our great friend Johan for taking care of us in the field. Thanks to Sophie Cloutier and Simonne Harvey-Lavoie for their help with the enzyme immunoassay. This work conformed to guidelines of the Canadian Council on Animal care and the Animal Research and Ethics Board at McMaster University (06-10-59).

Authors Contributions: SB, NAH and SS designed the project. SB, SS, MYW, SMR and JOR performed the field experiment. SS did the enzyme immunoassay. SS, SB and NAH analyzed the data. SS, SB and NAH wrote the article.

3.1.7. References

- Altmann J., Alberts S.C.** 2005. Growth rates in a wild primate population: ecological influences and maternal effects. *Behav Ecol Sociobiol.* 57; 490-501.
- Archie E.A., Morrison T.A., Foley C.A.H., Moss C.J., Alberts S.C.** 2006. Dominance rank relationships among wild female African elephants, *Loxodonta Africana*. *Anim Behav.* 71; 117-127.
- Ardia D.R., Broughton D.R., Gleicher M.J.** 2010. Short-term exposure to testosterone propionate leads to rapid bill color and dominance changes in zebra finches. *Horm Behav.* doi:10.1016/j.yhbeh.2010.04.004.
- Aubin-Horth N., Desjardins J.K., Martei Y.M., Balshine S., Hoffman H.A.** 2007. Masculinized dominant females in a cooperatively breeding species. *Mol Ecol.* 16; 1349-1358.
- Balshine-Earn S., Lotem A.** 1998. Individual recognition in a cooperatively breeding cichlid: Evidence from video playback experiments. *Behaviour.* 135; 369-386.
- Balshine-Earn S., Neat F.C., Reid H., Taborsky M.** 1998. Paying to stay or paying to breed? Field evidence for direct benefits of helping behavior in a cooperatively breeding fish. *Behav Ecol.* 9; 432-438.
- Balshine S., Leach B., Neat F., Reid H., Taborsky M., Werner N.** 2001. Correlates of group size in a cooperatively breeding cichlid fish (*Neolamprologus pulcher*). *Behav Ecol Sociobiol.* 50; 134-140.
- Balshine S., Buston P.M.** 2008. "Cooperation in fish" in *Fish behaviour ecology*, Eds. Magnhagen C., Braithwaite V., Forsgren E., Kapoor B.G. Science Publishers, Enfield, NH. 437-484.

- Bamshad M., Novak M.A., De Vries G.J.** 1993. Sex and species differences in the vasopressin innervation of sexually naïve and parental prairie voles, *Microtus ochrogaster* and meadow voles, *Microtus pennsylvanicus*. J Neuroendocrinol. 5; 247-255.
- Beehner J.C., Phillips-Conroy J.E., Whitten P.L.** 2005. Female testosterone, dominance rank, and aggression in an Ethiopian populaion of hybrid baboons. Am J Primatol. 67; 101-119.
- Bender N., Heg-Bachar Z., Oliveira R.F., Canario A.V.M., Taborsky M.** 2008. Hormonal control of brood care and social status in a cichlid fish with brood care helpers. Physiol Behav. 94; 349-358.
- Blanchard D.C., Blanchard R.J.** 1990. Behavioral correlated of chronic dominance-subordination relationships of male rats in a seminatural situation. Neurosci Biobehav Rev. 14; 455-462.
- Brouwer L., Heg D., Taborsky M.** 2005. Experimental evidence for helper effects in a cooperatively breeding cichlid. Behav Ecol. 16; 667-673.
- Buchanan K.L., Evans M.R., Goldsmith A.R.** 2003. Testosterone, dominance signaling and immunosuppression in the house sparrow, *Passer domesticus*. Behav Ecol Sociobiol. 55; 50-59.
- Buchner A.S., Sloman K.A., Balshine S.** 2004. The physiological effects of social status in the cooperatively breeding cichlid *Neolamprologus pulcher*. J Fish Biol. 65; 1080-1095.
- Buston P.** 2003. Size and growth modification in clownfish. Nature. 424; 145-146.

Buston P.M., Balshine S. 2007. Cooperating in the face of uncertainty: A consistent framework for understanding the evolution of cooperation. *Behav Processes*. 76; 152-159.

Cardwell J.R., Liley N.R. 1991. Androgen control of social status in males of a wild population of spotlight parrotfish, *Sparisoma viride* (Scaridae). *Horm Behav*. 25; 1-18.

Chu J., Marler C.A., Wilczynski W. 1998. The effects of arginine vasotocin on the calling behavior of male cricket frogs in changing social contexts. *Horm Behav*. 34; 248-261.

Clutton-Brock T.H., Brotherton P.N.M., Russell A.F., O’Riain M.J., Gaynor D., Kansky R., Griffin A.S., Manser M.B., Sharpe L., McIlrath G.M., Small T., Moss A., Monfort S. 2001. Cooperation, conflict, and concession in meerkats groups. *Science*. 291; 478-481.

Clutton-Brock T.H., Hodge S.J., Spong G., Russel A.F., Jordan N.R., Bennett N.C., Sharpe L.L., Manser M.B. 2006. Intrasexual competition and sexual selection in cooperative mammals. *Nature*. 444; 1065-1068.

Cohen J. 1977. Statistical power analysis for the behavioral sciences. Academic Press, New York, NY.

Costa-Pinto F.A., Cohn D.W., Sa-Rocha V.M., Sa-Rocha L.C., Palermo-Neto J. 2009. Behavior: a relevant tool for brain-immune system interaction studies. *Ann NY Acad Sci*. 1153; 107-119.

Côté S.D. 2000. Dominance hierarchies in female mountain goats: stability, aggressiveness and determinants of ranks. *Behaviour*. 137; 1541-1566.

Desjardins J.K., Fitzpatrick J.L., Stiver K.A., Van Der Kraak G.J., Balshine S. 2008a. Costs and benefits of polygyny in the cichlid *Neolamprologus pulcher*. Anim Behav. 75; 1771-1779.

Desjardins J.K., Stiver K.A., Fitzpatrick J.L., Milligan N., Van Der Kraak G.J., Balshine S. 2008b. Sex and status in a cooperative breeding fish: behavior and androgens. Behav Ecol Sociobiol. 62; 785-794.

De Vries H. 1995. An improved test of linearity in dominance hierarchies containing unknown or tied relationship. Anim Behav. 50; 1375-1389.

De Vries H. 1998. Finding a dominance order most consistent with a linear hierarchy: a new procedure and review. Anim Behav. 55; 827-843.

Dloniak S.M., French J.A., Holekamp K.E. 2006. Rank-related maternal effects of androgens on behaviour in wild spotted hyaenas. Nature. 440; 1190-1193.

Done B.S., Heatwole H. 1977. Effects of hormones on the aggressive behaviour and social organization of the scincid lizard, *Sphenomorphus kosciuskoi*. Z Tierpsychol. 44; 1-12.

Esbjörnsson M., Norman B., Suchdev S., Viru M., Lindhgren A., Jansson E. 2009. Greater growth hormone and insulin response in women than in men during repeated bouts of sprint exercise. Acta Physiol. 197; 107-115.

Fitzpatrick J., Desjardins J., Stiver K., Montgomerie R., Balshine S. 2006. Male reproductive suppression in the cooperatively breeding fish *Neolamprologus pulcher*. Behav Ecol. 17; 25-33.

Fitzpatrick J.L., Desjardins J.K., Milligan N., Stiver K.A., Montgomerie R., Balshine S. 2008. Female-mediated causes and consequences of status change in social fish. Proc Biol Sci. 275; 929-936.

- Godwin J., Sawby R., Warner R.R., Crews D., Grober M.S.** 2000. Hypothalamic arginine vasotocin mRNA abundance variation across sexes and with sex-change in a coral reef fish. *Brain Behav Evol.* 55; 77-84.
- Grantner A., Taborsky M.** 1998. The metabolic rates associated with resting, and with the performance of agonistic, submissive and digging behaviours in the cichlid fish *Neolamprologus pulcher* (Pisces: Cichlidae). *J Comp Physiol B.* 168; 427-433.
- Hattori T., Wilczynski W.** 2009. Comparison of arginine vasotocin immunoreactivity differences in dominant and subordinate green anole lizard. *Physiol Behav.* 96; 104-107.
- Heg D., Bender N., Hamilton I.** 2004. Strategic growth decisions in helper cichlids. *Proc Biol Sci.* 271; S505-S508.
- Heg D., Jutzeler E., Mitchell J.S., Hamilton I.M.** 2009. Helpful female subordinate cichlids are more likely to reproduce. *PLoS One.* 4; e5458.
- Hert E.** 1985. Individual recognition of helpers by the breeders in the cichlid fish *Lamprologus brichardi* (Poll, 1974). *Z Tierpsychol.* 68; 313-325.
- Jordan L.A., Wong M.Y.L., Balshine S.S.** 2009. The effects of familiarity and social hierarchy on group membership decisions in a social fish. *Biol Lett.* 6; 301-303.
- Kendall, M.G.** 1955. Rank Correlation Methods. Hafner Publishing Co., New York, NY.
- Kime D.E.** 1993. 'Classical' and 'non-classical' reproductive steroids in fish. *Rev Fish Biol Fish.* 3; 160-180.
- Le Vin A.L., Mable B.K., Arnold K.E.** 2010. Kin recognition via phenotype matching in a cooperatively breeding cichlid, *Neolamprologus pulcher*. *Anim Behav.* 79; 1109-1114.

- Lotem A., Wagner R.H., Balshine-Earn S.** 1999. The overlooked signaling component of nonsignaling behavior. *Behav Ecol.* 10; 209-212.
- Mays N.M., Vleck C.M., Dawson J.** 1991. Plasma luteinizing hormone, steroid hormones, behavioural role, and nest stage in cooperatively breeding Harris' hawks (*Parabuteo unicinctus*). *Auk.* 108; 619-637.
- Moore F.L., Wood R.E., Boyd S.K.** 1992. Sex steroids and vasotocin interact in a female amphibian (*Taricha marulosa*) to elicit female-like egg-laying behavior or male-like courtship. *Horm Behav.* 26; 156-166.
- Morgan D., Grant K.A., Prioleau O.A., Nader S.H., Kaplan J.R., Nader M.A.** 2000. Predictors of social status in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) after group formation. *Am J Primatol.* 52; 115-131.
- Munro A.D., Pitcher T.J.** 1985. Steroid hormones and agonistic behavior in a cichlid teleost, *Aequidens pulcher*. *Horm Behav.* 19; 353-371.
- O'Riain M.J., Jarvis J.U.M., Alexander R., Buffenstein R., Peeters C.** 2000. Morphological castes in a vertebrate. *Proc Natl Acad Sci USA.* 97; 13194-13197.
- Paull G.C., Filby A.L., Giddins H.G., Coe T.S., Hamilton P.B., Tyler C.R.** 2010. Dominance hierarchies in zebrafish (*Danio rerio*) and their relationship with reproductive success. *Zebrafish.* 7; 109-117.
- Poiani A., Fletcher T.** 1994. Plasma levels of androgens and gonadal development of breeders and helpers in the bell miner (*Manorina melanophrys*). *Behav Ecol Sociobiol.* 34; 31-41.
- Poisbleau M., Fritz H., Guillon N., Chastel O.** 2005. Linear social dominance hierarchy and corticosterone responses in male mallards and pintails. *Horm Behav.* 47; 485-492.

R Development Core Team. 2009. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

Renn S.C.P., Aubin-Horth N., Hofmann H.A. 2008. Fish and chips: functional genomics of social plasticity in an African cichlid fish. *J Exp Biol.* 211; 3041-3056.

Ricker W.E. 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bull Fish Res Board Can.* 191; 1-382.

Robert M.R., Holaday J.W., Berstein I.S. 1971 Plasma testosterone, dominance rank and aggressive behaviour in male Rhesus monkey. *Nature.* 231; 366-368.

Roberts M.L., Buchanan K.L., Evans M.R. 2004. Testing the immunocompetence handicap hypothesis: a review of the evidence. *Anim Behav.* 68; 227-239.

Russel A.F., Carlson A.A., McIlrath G.M., Jordan N.R., Clutton-Brock T. 2004. Adaptive size modification by dominant female meerkats. *Evolution.* 58; 1600-1607.

Schmidt P., Pusch H.H., Wolf W., Pilger E., Pessenhofer H., Schwabberger G., Pristautz H., Pürstner P. 1982. Serum FSH, LH, and testosterone in human after physical exercise. *Int J Sports Med.* 3; 84-89.

Searcy W.A., Wingfield J.C. 1980. The effects of androgen and antiandrogen on dominance and aggressiveness in male red-winged blackbirds. *Horm Behav.* 14; 126-135.

Semsar K., Godwin J. 2003. Social influences on the arginine vasotocin system are independent of gonads in a sex-changing fish. *J Neurosci.* 23; 4386-4393.

Smith A.R., Seid M.A., Jiménez L.C., Weislo W.T. 2010. Socially induced brain development in a facultatively eusocial sweat bee *Megalopta genalis* (Halictidae). *Proc R Soc Biol Sci.* 277; 2157-2163.

Sopinka N.M., Fitzpatrick J.L., Desjardins J.K., Stiver K.A., Marsh-Rollo S.E., Balshine. S. 2009. Liver sizes as an indicator of social status in an African cichlid fish. *J Fish Biol.* 75; 1-16.

Stiver K.A., Dierkes P., Taborsky M., Balshine S. 2004. Dispersal patterns and status change in the co-operatively breeding cichlid *Neolamprologus pulcher*: evidence from microsatellite analyses and behavioural observations. *J Fish Biol.* 65; 91-105.

Stiver K.A., Fitzpatrick J., Desjardins J.K., Balshine S. 2006. Sex differences in rates of territory joining and inheritance in a cooperatively breeding cichlid fish. *Anim Behav.* 71;449-456.

Stiver K.A., Desjardins J.K., Fitzpatrick J.L., Neff B., Quinn S., Balshine S. 2007. Evidence for size and sex-specific dispersal in a cooperatively breeding cichlid species. *Mol Ecol.* 16; 2974-2984.

Taborsky M. 1984. Broodcare helpers in the cichid fish *Lamprologus brichardi*, their costs and benefits. *Anim Behav.* 32; 1236-1252.

Taborsky M., Grantner A. 1998. Behavioural time-energy budgets of cooperatively breeding *Neolamprologus pulcher* (Pisces: Cichlidae). *Anim Behav.* 56; 1375-1382.

Whitfield C.W., Cziko A.M., Robinson G.E. 2003. Behavior in individual honey bees gene expression profiles in the brain predict. *Science.* 302; 296-299.

Wilson E.O. 1971. The insect societies. Havard Univ Press, Cambridge, MA.

Wong M.Y.L., Munday P.L., Buston P.M., Jones G.P. 2008. Fasting or feasting in a fish social hierarchy. *Curr Biol.* 18; R372-373.

Wong M., Balshine S. in press. The evolution of cooperative breeding in the African cichlid fish, *Neolamprologus pulcher*. *Biol Rev.* [doi:10.1098/rsbl.2010.0639](https://doi.org/10.1098/rsbl.2010.0639).

Zahavi A. 1975. Mate selection – A selection for a handicap. *J Theor Biol.* 53; 205-214.

Zahavi A. 1995. Altruism as a handicap – the limitations of kin selection and reciprocity. *J Avian Biol.* 26; 1-3.

3.1.8. Legends to figures

Figure 3.1. Treatment groups where the dominant female was removed were compared to control groups.

Behavioural observations on both manipulated and control groups took place on days -1, +1 and +6. On each day, two behavioural watches were conducted on the dominant male, dominant female and two largest subordinate females in each group. On Day 0, dominant females were captured and permanently removed in the removal groups (N=10) providing an ascension opportunity to large subordinate females. On day +7, all ascending, remaining dominant and subordinate females were collected to assess physiological measures.

Figure 3.2. Body size and cooperation at the start of experiment predict probability of ascension of subordinate females presented with a social opportunity.

Mean differences \pm standard error in mass (a) and workload index (b) between ascenders (N= 7) and subordinates non-ascenders from the same groups (N= 7). Letters identify significantly different groups ($p \leq 0.05$).

Figure 3.3. Females of the three social statuses do not differ in their plasmatic testosterone levels.

Boxplot showing median of the plasmatic testosterone levels in stable dominant (black bar), ascending (grey bar) and stable subordinate (white bar) females. The bottom and top of the box represent the 25th and 75th percentiles and the whiskers the standard deviation.

Figure 3.4. Dominant females differed in behaviour and physiology from the subordinate females at the start of the experiment.

Mean differences \pm standard error in a) standard length, b) the dominance index and c) the social behaviour index between dominant (N= 20) and subordinate females on Day -1 (including future ascenders, N= 19). Black bars represents stable dominant females and white bars represent stable subordinates. Inset in Figure 2a. Correlation between body mass and body length in all females. Letters identify significant difference between groups ($p \leq 0.05$).

Figure 3.5. Ascending females change in dominance and social behaviour when they access a higher dominance rank when compared to stable subordinate females and dominant females from control groups.

Mean differences \pm standard error in dominance and social indices after the removals (Day +6) in a) stable subordinates (white bars) versus ascender females (grey bars) and b) in stable dominants (black bars) compared to ascender females (grey bars). Letters identify significant differences ($p \leq 0.05$).

Figure 3.1. Treatment groups where the dominant female was removed were compared to control groups.

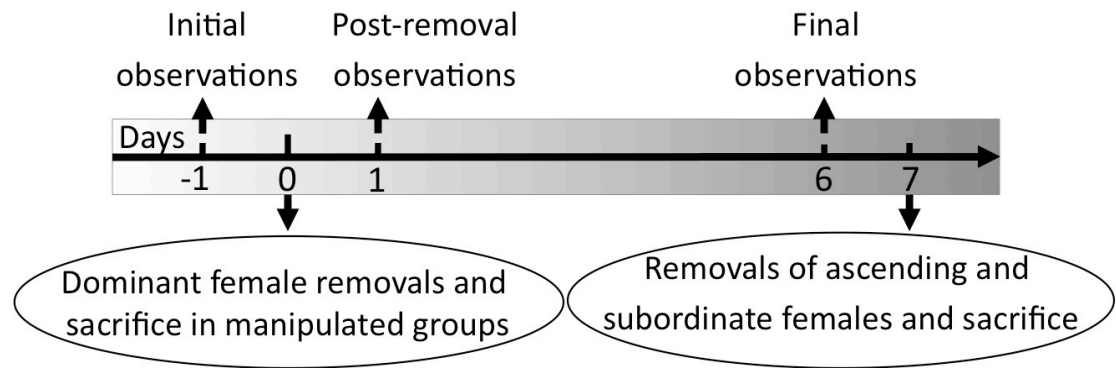


Figure 3.2. Body size and cooperation at the start of experiment predict probability of ascension of subordinate females presented with a social opportunity.

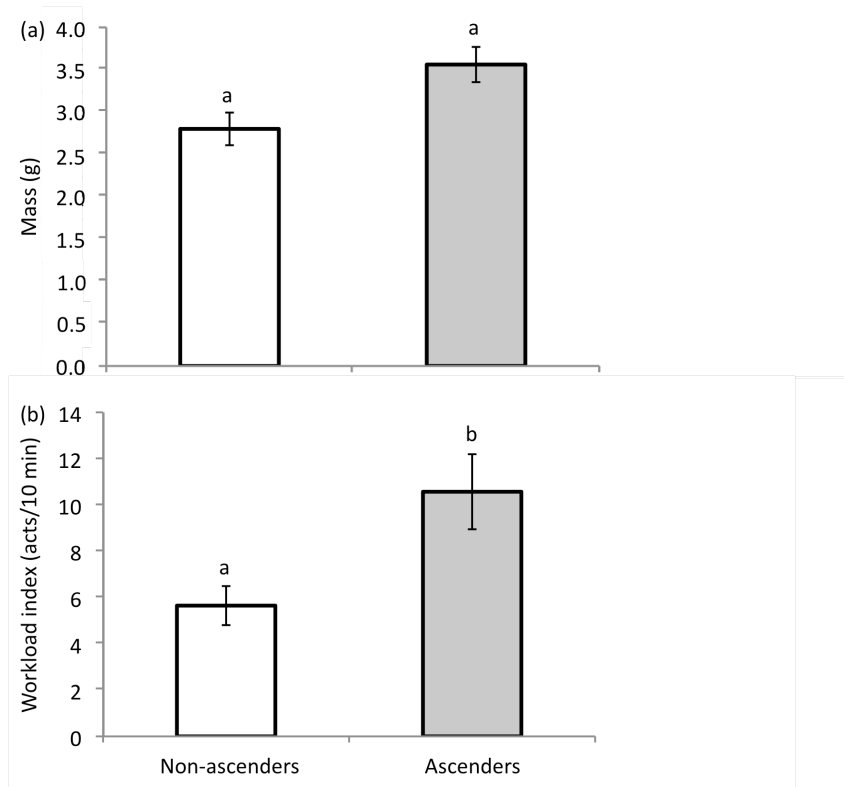


Figure 3.3. Females of the three social statuses do not differ in their plasmatic testosterone levels.

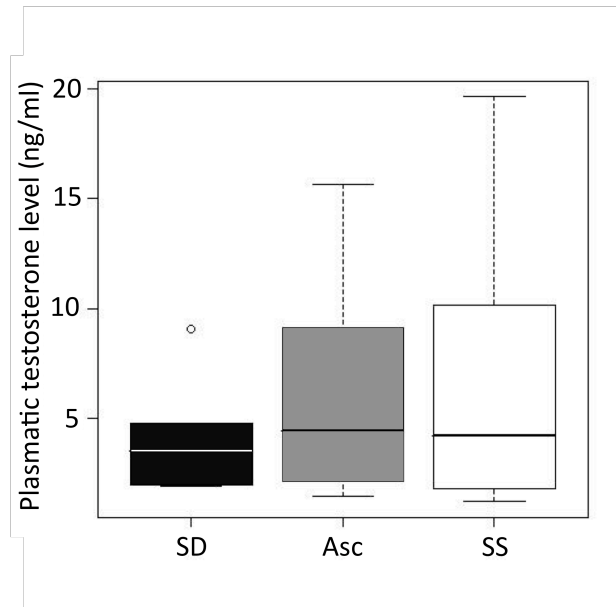


Figure 3.4. Dominant females differed in behaviour and physiology from the subordinate females at the start of the experiment.

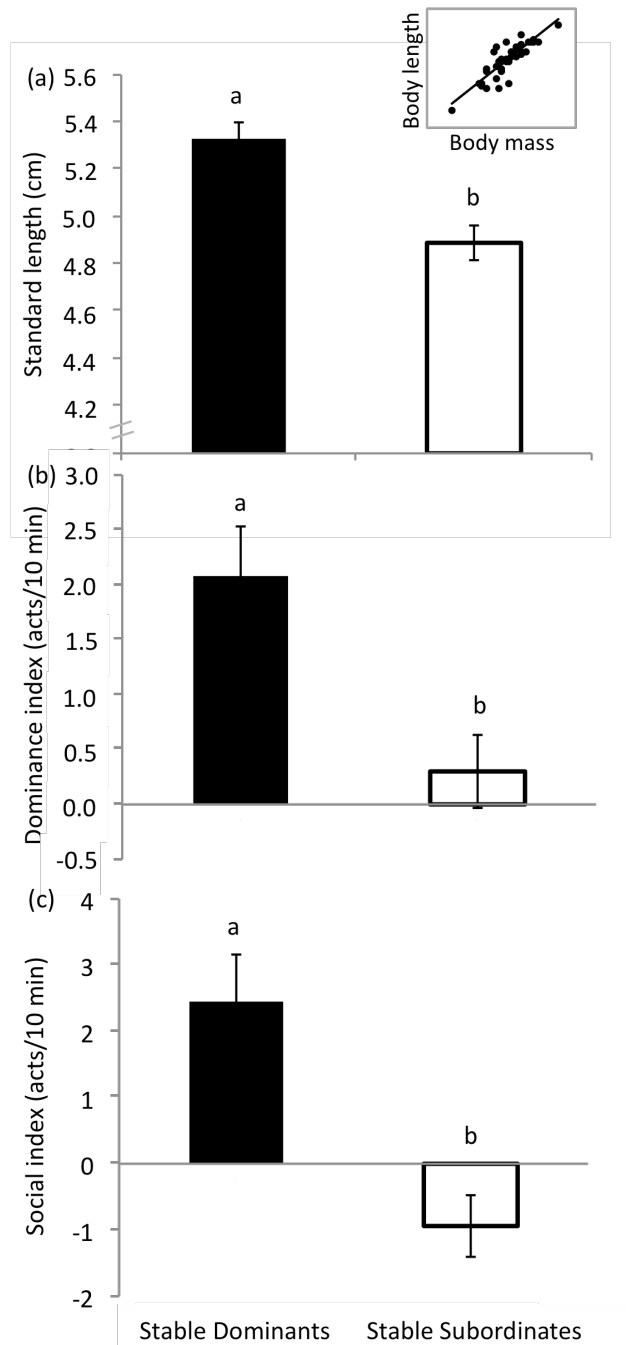
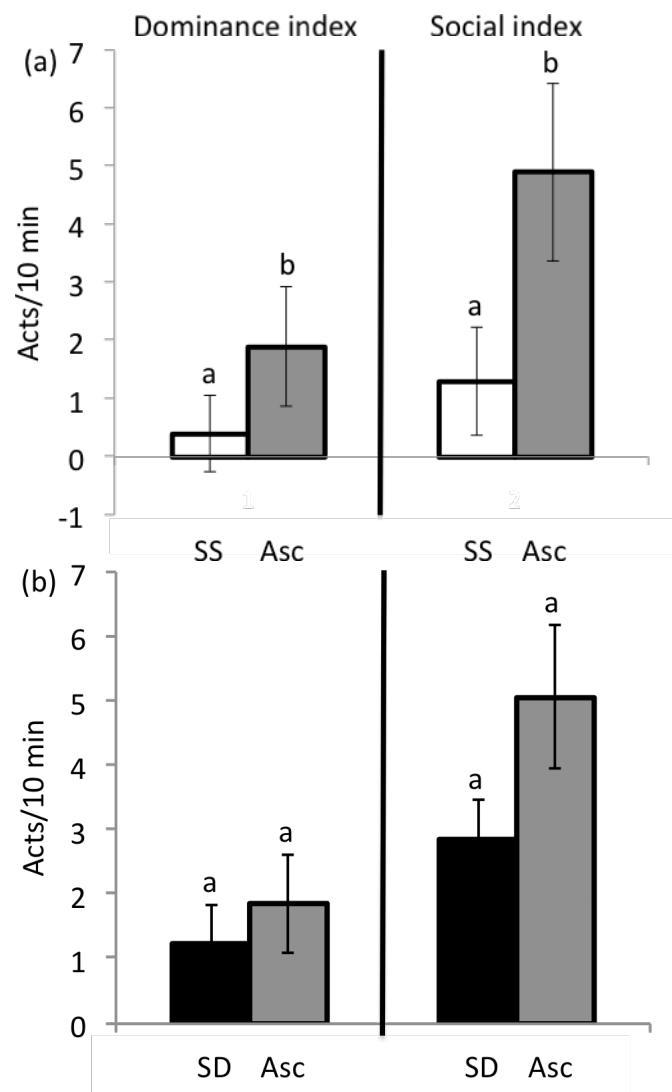


Figure 3.5. Ascending females change in dominance and social behaviour when they access a higher dominance rank when compared to stable subordinate females and dominant females from control groups.



3.2. Répartition des femelles selon leurs comportements, leur physiologie et leur niveau de testostérone plasmatique

Cette portion des résultats sera publiée dans un deuxième article incluant les résultats de biopuces présentés dans l'**Annexe 2**. La présentation des analyses en composantes principales est pertinente ici pour illustrer les différences entre les femelles des trois statuts sociaux étudiés.

3.2.1. Groupement des femelles par analyse en composantes principales

Les composantes principales 1, 2 et 3 expliquent respectivement 29,7, 18,2, et 12,2% de la variance entre les femelles des trois statuts sociaux pour un total de 60,1% de la variance entre les individus expliquée par les descripteurs comportementaux, physiologiques et hormonal présentés plus tôt. Les femelles des trois statuts sociaux se regroupent de façon plus ou moins distincte, montrant qu'il existe une variation importante au sein d'un même statut social (**Figure 3.6**). La variation des femelles dominantes (de -0,47 à 0,45, étendue 0,92) et subordonnées (de -0,12 à 0,99, étendue 1,11) est semblable sur la PC1. La PC1 nous permet de distinguer l'appartenance d'une femelle à un statuts social. En somme, les femelles ascendantes présentent une plus grande variance sur la PC1 (de -1,18 à 0,56, étendue 1,74) que les femelles dominantes et subordonnées. Le patron de répartition des femelles ascendantes est donc distinct des statuts sociaux stables, allant fortement au-delà dans la portion négative de la PC1. C'est donc dire que les femelles ascendantes diffèrent plus entre elles que le font les femelles de statut social stable (dominante et subordonné). En fait, leur différence est supérieure à celle des femelles dominantes et subordonnées additionnée sur cet axe de variance principal.

La deuxième composante principale, quant à elle, semble expliquer la variance au sein des statuts sociaux plutôt qu'entre les statuts sociaux puisque les trois statuts sociaux se superposent largement sur cet axe (femelle dominante : de -0,33 à 0,95, étendue 1,28; femelles subordonnées : de -0,61 à 0,65, étendue 1,26). Ici, les femelles

ascendantes sont moins dispersées que les femelles dominantes et subordonnées (de -0,55 à 0,13, étendue 0,68). C'est donc dire que les femelles ascendantes sont plus semblables que les femelles de statuts sociaux stables. Les femelles ascendantes se rapprochent plus des femelles subordonnées que des femelles dominantes sur la PC2, contrairement à la PC1.

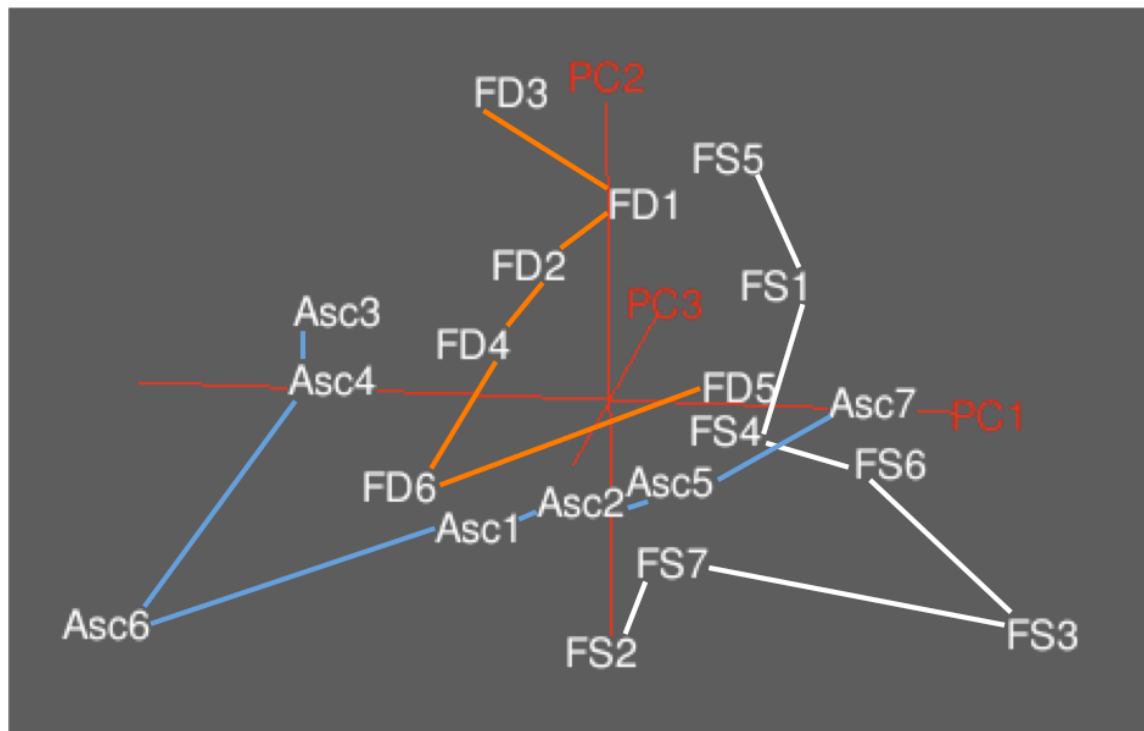


Figure 3.6. Répartition des femelles par analyse en composantes principales.

Représentation des distances euclidiennes entre les femelles des trois statuts sociaux, dominantes, ascendantes et subordonnées, selon les trois premières composantes principales (PC) représentées en cadrage 1. Les composantes expliquant respectivement 29,1, 18,6 et 12,5 % de la variance totale. Les femelles dominantes (FD1-6), ascendantes (Asc1-7) et subordonnées (FS1-7) sont respectivement reliées entre elle en orange, bleu et blanc.

3.2.2. **Corrélation entre les descripteurs de l'analyse en composantes principales.**

L'analyse en composante principale en cadrage 2 a permis de déterminer les descripteurs contribuant le plus aux CP1 et CP2 ainsi que d'observer des ensembles de descripteurs fortement corrélés positivement (bulles 1 à 5; **Figure 3.7**). La contribution attendue pour les différents descripteurs sur les CP1 et CP2 est de 0,3244. Tous les descripteurs contribuent de manière plus importante que leur contribution attendue, ils contribuent donc activement à la CP1, expliquant 29,7% de la variance entre les femelles des trois statuts sociaux. Le seul facteur exclu de la PC1 est le FCF. Les descripteurs contribuant le plus, donc expliquant la plus grande part de la variance, sont DI_{It}, Ms, DI, et Ad soit des descripteurs majoritairement associés à la bulle 4. Ces descripteurs expliquent donc en partie la variation entre les statuts sociaux. Quant à la CP2, expliquant 18,2% de la variance, tous les descripteurs y contribuent plus que leur contribution attendues, excepté la longueur standard, le facteur de condition de Fulton, l'indice gonado-somatique et l'indice de coopération. Les descripteurs contribuant le plus à la CP2 sont AT, Ma, Sud et Cht soit les descripteurs associés aux bulles 1 et 5. Ces descripteurs expliquent donc en partie la variation à l'intérieur d'un statut social.

Nous avons comparé les ensembles de descripteurs fortement corrélés pour l'ensemble des femelles dont le niveau de T plasmatique a été mesuré (**Tableau 1**). Les angles entre les descripteurs n'étaient pas toujours des indicateurs de la corrélation entre ces descripteurs. En effet, les « prédictions » n'étaient exactes que dans 66 % des cas. Tel qu'attendu, les Ad, Sur, IMD, IS sont corrélées positivement avec l'ID et l'ID_t puisqu'elles en sont des contributrices. L'indice de coopération est corrélé positivement avec l'IS, l'ID_t ainsi que G et négativement avec l'AT et Ma. Le niveau plasmatique de T est corrélé négativement avec l'IHS et l'IGS.

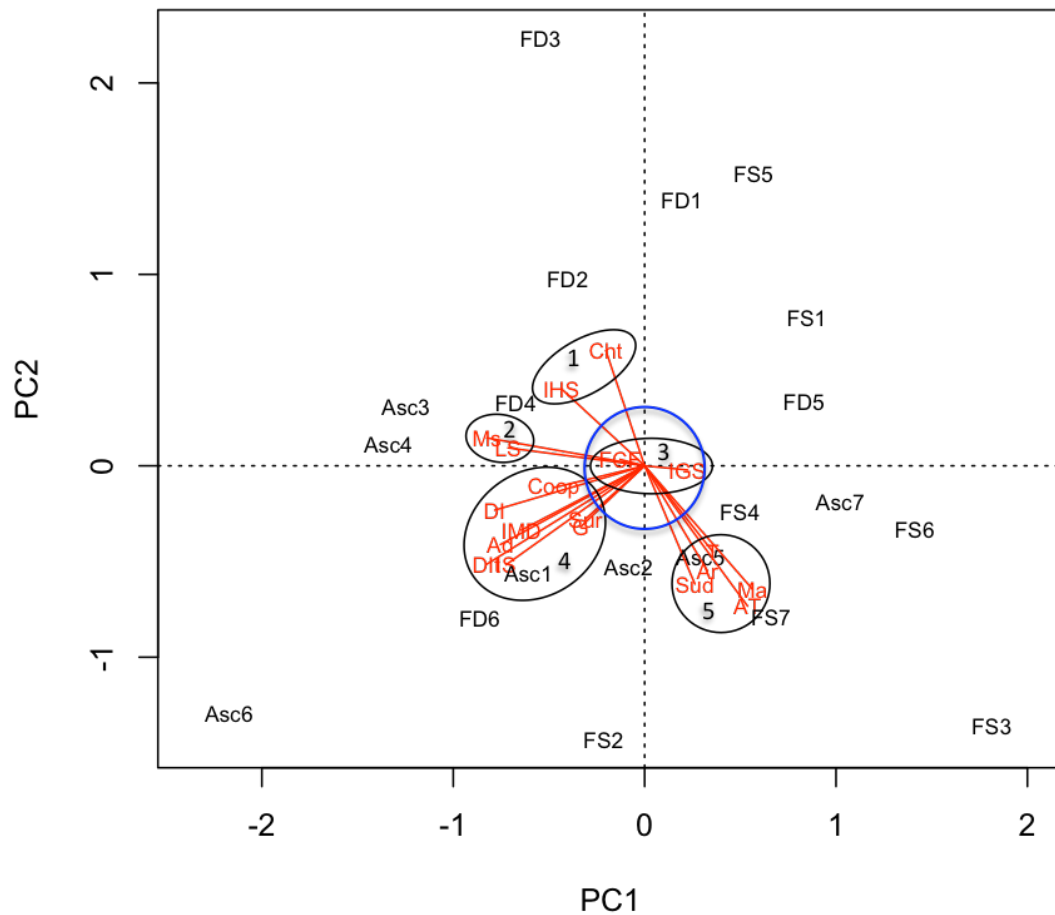


Figure 3.7. Corrélation entre les descripteurs par analyse en composantes principales.

Représentation de la corrélation entre les descripteurs utilisés pour expliquer une partie de la variance entre les femelles des trois statuts sociaux, dominante, ascendantes et subordonnées, selon les deux premières composantes principales (PC) représentées en cadrage 2. Les angles entre les vecteurs, représentant les différents descripteurs indiqués en apex, représentent la corrélation entre ces descripteurs (corrélation positive parfaite :

0°, corrélation négative parfaite : 180°, aucune corrélation : 90° entre les vecteurs). Les distances euclidiennes entre les femelles ne sont pas respectées en cadrage 2. Dans les bulles se retrouvent des descripteurs fortement corrélés positivement. Le cercle bleu montre la contribution attendue de chacun des descripteurs aux PC1 et PC2 (0,3244).
 Légende. Bulle 1 : Cht (temps passé dans la chambre de reproduction), IHS (indice hépato-somatique). Bulle 2 : Ms (masse), LS (longueur standard). Bulle 3 : IGS (indice gonado-somatique), FCF (facteur de condition de Fulton). Bulle 4 : Coop (l'indice de coopération), ID (indice de dominance), IDt (indice de dominance + IS), Ad (agression donnée), IS (indice social), IMD (interactions sociales avec le mâle dominant), Sur (subordination reçue), G (se gratte). Bulle 5 : Ar (agression reçue), T (niveau de testostérone plasmatique), Sud (subordination donnée), Ma (manger), AT (activité totale).

Tableau 1. Corrélations de Pearson entre les ensembles de descripteurs.

Bulle 1	HIS	Bulle 2	Ms
Cht	$z=4,4$ $\tau=0,71$ $p<0,0001$	LS	$t=5,8$ $r=0,80$ $p<0,0001$

Bulle 3	FCF
IGS	$t=1,0$ $r=0,24$ $p=0,8$ $pwr=0,16$

Bulle 4	Sur	ID	IS	ID t	IMD	Coop	G
Ad	$z=2,2$ $\tau=0,41$ $p<0,0001$	$z=3,3$ $\tau=0,59$ $p<0,001$	$z=3,4$ $\tau=0,60$ $p<0,001$	$z=3,5$ $\tau=0,61$ $p<0,001$	$z=2,5$ $\tau=0,44$ $p<0,01$	$z=1,5$ $\tau=0,26$ $p=0,07$	$z=1,0$ $\tau=0,17$ $p=0,2$
Sur		$z=3,7$ $\tau=0,68$ $p<0,0001$	$z=1,6$ $\tau=0,29$ $p=0,05$	$z=2,7$ $\tau=0,49$ $p<0,01$	$z=2,7$ $\tau=0,48$ $p<0,01$	$z=-0,03$ $\tau=-0,006$ $p=0,5$	$z=0,06$ $\tau=0,01$ $p=0,5$
ID			$z=2,0$ $\tau=0,35$ $p=0,03$	$z=3,6$ $\tau=0,61$ $p<0,001$	$z=2,1$ $\tau=0,38$ $p=0,02$	$z=1,0$ $\tau=0,17$ $p=0,2$	$z=1,5$ $\tau=0,26$ $p=0,07$
IS				$z=4,7$ $\tau=0,79$ $p<0,0001$	$z=4,1$ $\tau=0,71$ $p<0,0001$	$z=2,1$ $\tau=0,35$ $p=0,02$	$z=0,4$ $\tau=0,07$ $p=0,3$
ID t					$z=3,6$ $\tau=0,63$ $p<0,0001$	$z=2,3$ $\tau=0,38$ $p=0,01$	$z=1,2$ $\tau=0,20$ $p=0,1$
IMD						$z=1,0$ $\tau=0,18$ $p=0,2$	$z=-0,65$ $\tau=-0,11$ $p=0,7$
Coop							$z=2,1$ $\tau=0,35$ $p=0,02$

Bulle 5	Sud	Ma	AT	T
Ar	$z=1,8$ $\tau=0,38$ $p=0,04$	$z=-0,34$ $\tau=-0,07$ $p=0,6$	$z=-0,37$ $\tau=-0,07$ $p=0,6$	$z=1,3$ $\tau=0,25$ $p=0,09$
Sud		$z=2,1$ $\tau=0,39$ $p=0,02$	$z=2,1$ $\tau=0,39$ $p=0,02$	$z=0,71$ $\tau=0,13$ $p=0,2$
Ma			$T=181$ $\tau=0,91$ $p<0,001$	$T=117$ $\tau=0,23$ $p=0,08$
AT				$T=118$ $\tau=0,24$ $p=0,07$

	Bulle 1		
Bulle 2		Cht	HIS
LS		$z=0,3$ $\tau=0,04$ $p=0,4$	$t=0,2$ $r=0,05$ $p=0,4$ $pwr=0,05$
Ms		$z=0,5$ $\tau=0,08$ $p=0,3$	$t=0,8$ $r=0,19$ $p=0,2$ $pwr=0,12$

	Bulle 1		
Bulle 3		Cht	HIS
IGS		$z=1,2$ $\tau=0,21$ $p=0,1$	$z=3,0$ $\tau=0,51$ $p=0,001$
FCF		$z=-0,5$ $\tau=-0,08$ $p=0,7$	$t=0,2$ $r=0,05$ $p=0,4$ $pwr=0,05$

	Bulle 1		
Bulle 4		Cht	HIS
Ad		$z=0,09$ $\tau=0,02$ $p=0,5$	$z=0,6$ $\tau=0,10$ $p=0,3$
Sur		$z=0,4$ $\tau=0,07$ $p=0,4$	$z=-0,3$ $\tau=-0,06$ $p=0,6$
ID		$z=0,6$ $\tau=0,09$ $p=0,3$	$z=0,7$ $\tau=0,12$ $p=0,2$
IS		$z=-0,6$ $\tau=-0,09$ $p=0,7$	$z=0,8$ $\tau=0,12$ $p=0,2$
IDt		$z=-0,7$ $\tau=-0,11$ $p=0,8$	$z=0,6$ $\tau=0,10$ $p=0,3$
IMD		$z=-0,2$ $\tau=-0,03$ $p=0,6$	$z=0,7$ $\tau=0,11$ $p=0,2$
Coop		$z=-0,4$ $\tau=-0,06$ $p=0,6$	$z=-0,03$ $\tau=-0,01$ $p=0,5$
G		$z=-0,9$ $\tau=-0,15$ $p=0,8$	$z=-0,2$ $\tau=-0,03$ $p=0,6$

	Bulle 1		
Bulle 5		Cht	HIS
Ar		$z=1,1$ $\tau=0,21$ $p=0,9$	$z=-0,04$ $\tau=-0,01$ $p=0,5$
Sud		$z=-1,0$ $\tau=-0,19$ $p=0,2$	$z=-1,1$ $\tau=-0,21$ $p=0,1$
Ma		$z=-2,1$ $\tau=-0,35$ $p=0,02$	$z=-2,3$ $\tau=-0,37$ $p=0,01$
AT		$z=-2,2$ $\tau=-0,36$ $p=0,01$	$z=-2,3$ $\tau=-0,38$ $p<0,01$
T		$z=-0,5$ $\tau=-0,08$ $p=0,3$	$t=-7,1$ $r=-0,86$ $p<0,0001$ $pwr=1,0$

	Bulle 2		
Bulle 3		LS	Ms
IGS		$t=0,4$ $r=0,09$ $p=0,7$ $pwr=0,06$	$t=2,8$ $r=0,57$ $p<0,01$ $pwr=0,73$
FCF		$t=-1,6$ $r=-0,34$ $p=0,07$ $pwr=0,32$	$t=1,1$ $r=0,24$ $p=0,1$ $pwr=0,17$

	Bulle 2		
Bulle 4		LS	Ms
Ad		$z=1,9 \text{ tau}=0,33 \text{ p}=0,03$	$z=2,2 \text{ tau}=0,38 \text{ p}=0,01$
Sur		$z=1,3 \text{ tau}=0,23 \text{ p}=0,1$	$z=1,4 \text{ tau}=0,25 \text{ p}=0,08$
ID		$z=2,0 \text{ tau}=0,35 \text{ p}=0,02$	$z=2,6 \text{ tau}=0,44 \text{ p}<0,01$
IS		$z=1,9 \text{ tau}=0,31 \text{ p}=0,03$	$z=1,9 \text{ tau}=0,32 \text{ p}=0,03$
ID t		$z=2,0 \text{ tau}=0,35 \text{ p}=0,02$	$z=2,2 \text{ tau}=0,37 \text{ p}=0,01$
IMD		$z=2,1 \text{ tau}=0,36 \text{ p}=0,02$	$z=1,8 \text{ tau}=0,30 \text{ p}=0,04$
Coop		$t=0,8 \text{ r}=0,19 \text{ p}=0,2 \text{ pwr}=0,11$	$t=0,8 \text{ r}=0,19 \text{ p}=0,2 \text{ pwr}=0,12$
G		$z=0,2 \text{ tau}=0,03 \text{ p}=0,4$	$z=0,4 \text{ tau}=0,06 \text{ p}=0,4$

	Bulle2		
Bulle 5		LS	Ms
Ar		$z=-1,6 \text{ tau}=-0,31 \text{ p}=0,05$	$z=-1,0 \text{ tau}=-0,19 \text{ p}=0,2$
Sud		$z=-0,7 \text{ tau}=-0,13 \text{ p}=0,2$	$z=-1,0 \text{ tau}=-0,19 \text{ p}=0,2$
Ma		$z=-1,9 \text{ tau}=-0,32 \text{ p}=0,03$	$z=-2,0 \text{ tau}=-0,33 \text{ p}=0,02$
AT		$z=-2,0 \text{ tau}=-0,33 \text{ p}=0,02$	$z=-2,15 \text{ tau}=-0,35 \text{ p}=0,02$
T		$t=-0,2 \text{ r}=-0,06 \text{ p}=0,4 \text{ pwr}=0,05$	$t=-1,2 \text{ r}=-0,28 \text{ p}=0,1 \text{ pwr}=0,22$

	Bulle 3		
Bulle 4		IGS	FCF
Ad		$z=0,1 \text{ tau}=0,02 \text{ p}=0,5$	$z=0,4 \text{ tau}=0,06 \text{ p}=0,3$
Sur		$z=-0,8 \text{ tau}=-0,15 \text{ p}=0,2$	$z=0,6 \text{ tau}=0,19 \text{ p}=0,2$
ID		$z=-0,4 \text{ tau}=-0,7 \text{ p}=0,3$	$z=0,8 \text{ tau}=0,29 \text{ p}=0,1$
IS		$z=0,8 \text{ tau}=0,14 \text{ p}=0,8$	$z=0,7 \text{ tau}=0,01 \text{ p}=0,5$
ID t		$z=0,1 \text{ tau}=0,02 \text{ p}=0,5$	$z=0,5 \text{ tau}=0,28 \text{ p}=0,1$
IMD		$z=0,4 \text{ tau}=0,07 \text{ p}=0,7$	$z=0,6 \text{ tau}=-0,22 \text{ p}=0,7$
Coop		$z=1,1 \text{ tau}=0,19 \text{ p}=0,1$	$t=-0,05 \text{ r}=-0,01 \text{ p}=0,5 \text{ pwr}=0,04$
G		$z=-0,1 \text{ tau}=-0,02 \text{ p}=0,4$	$z=0,0 \text{ tau}=0,03 \text{ p}=0,5$

	Bulle 3		
Bulle 5		IGS	FCF
Ar		$z=-0,4 \text{ tau}=-0,07 \text{ p}=0,4$	$z=0,2 \text{ tau}=0,04 \text{ p}=0,6$
Sud		$z=-0,4 \text{ tau}=-0,08 \text{ p}=0,3$	$z=-0,3 \text{ tau}=-0,05 \text{ p}=0,4$
Ma		$T=64 \text{ tau}=-0,25 \text{ p}=0,07$	$T=97 \text{ tau}=0,02 \text{ p}=0,6$
AT		$T=62 \text{ tau}=-0,27 \text{ p}=0,05$	$T=96 \text{ tau}=0,01 \text{ p}=0,5$
T		$t=-4,0 \text{ r}=-0,69 \text{ p}<0,001 \text{ pwr}=0,93$	$t=-0,8 \text{ r}=-0,19 \text{ p}=0,8 \text{ pwr}=0,12$

Bulle 5	Ar	Sud	Ma	AT	T
Bulle 4					
Ad	$z=0,5$ $\tau=0,09$ $p=0,3$	$z=0,6$ $\tau=0,11$ $p=0,7$	$z=-0,9$ $\tau=-0,16$ $p=0,8$	$z=-0,7$ $\tau=-0,13$ $p=0,8$	$z=-0,2$ $\tau=-0,04$ $p=0,6$
Sur	$z=-0,4$ $\tau=-0,09$ $p=0,7$	$z=-0,16$ $\tau=-0,03$ $p=0,6$	$z=-0,9$ $\tau=-0,16$ $p=0,8$	$z=-0,6$ $\tau=-0,11$ $p=0,7$	$z=0,9$ $\tau=0,16$ $p=0,2$
ID	$z=-1,4$ $\tau=-0,27$ $p=0,08$	$z=-1,8$ $\tau=-0,33$ $p=0,04$	$z=-1,5$ $\tau=-0,25$ $p=0,9$	$z=-1,3$ $\tau=-0,21$ $p=0,9$	$z=-0,1$ $\tau=-0,02$ $p=0,5$
IS	$z=0,1$ $\tau=0,02$ $p=0,5$	$z=1,1$ $\tau=0,21$ $p=0,9$	$z=-0,5$ $\tau=-0,09$ $p=0,7$	$z=-0,5$ $\tau=-0,09$ $p=0,7$	$z=-0,4$ $\tau=-0,06$ $p=0,7$
IDt	$z=-0,5$ $\tau=-0,10$ $p=0,3$	$z=0,4$ $\tau=0,08$ $p=0,7$	$z=-0,7$ $\tau=-0,11$ $p=0,8$	$z=-0,4$ $\tau=-0,07$ $p=0,7$	$z=-0,2$ $\tau=-0,03$ $p=0,6$
IMD	$z=0,0$ $\tau=0,00$ $p=0,5$	$z=1,0$ $\tau=0,20$ $p=0,2$	$z=-1,0$ $\tau=-0,18$ $p=0,8$	$z=-1,0$ $\tau=-0,18$ $p=0,8$	$z=0,0$ $\tau=-0,01$ $p=0,5$
Coop	$z=1,4$ $\tau=0,27$ $p=0,08$	$z=-0,4$ $\tau=-0,08$ $p=0,3$	$z=-2,3$ $\tau=-0,38$ $p=0,01$	$z=-2,2$ $\tau=-0,36$ $p=0,02$	$t=0,5$ $r=0,11$ $p=0,7$ $pwr=0,07$
G	$z=-1,4$ $\tau=-0,26$ $p=0,09$	$z=-0,8$ $\tau=-0,15$ $p=0,2$	$z=0,8$ $\tau=0,13$ $p=0,2$	$z=1,1$ $\tau=0,18$ $p=0,1$	$z=0,0$ $\tau=0,01$ $p=0,5$

* Les corrélations en gras sont significatives.

** Chaque test a 19 degrés de liberté.

Légende : Ar, agressions reçues par le poisson focal; Ad, agressions reçues par le poisson focal; Sur, subordinations reçues; Sud, subordinations données; ID, indice de dominance; IS, indice social; IDt, indice de dominance total (indice de dominance + IS); IMD, interactions sociales avec le mâle dominant du groupe; Coop, indice de coopération; Cht, temps passé dans la chambre de reproduction; Ma, fréquence d'alimentation; G, grattage; AT, activité totale; LS, longueur standard; Ms, masse; IGS, indice gonado-somatique; IHS, indice hépato-somatique; FCF, facteur de condition de Fulton; T, testostérone plasmatique en pg/mL.

4. Discussion

4.1. Changements dans le groupe lors de l'ascension sociale

4.1.1. Héritabilité du territoire par une femelle subordonnée du groupe social

Une semaine après avoir eu une opportunité d'ascension sociale, une femelle subordonnée provenant du groupe social avait hérité de la position dominante et du territoire dans 70 % des cas. Dans 86% de ces cas, l'AR1 a hérité du territoire alors que dans 14 % des cas (1 groupe), c'est la femelle en position AR2 qui s'est retrouvée ultimement dans la position dominante. Dans ce dernier groupe, la femelle ascendante au premier jour suivant l'opportunité sociale était l'AR1. L'AR2 de ce groupe avait un indice de coopération plus élevé que l'AR1 avant le retrait de la femelle dominante bien qu'étant moins lourde que celle-ci. Pour les 3 groupes expérimentaux restants, soit dans 30 % des cas, c'est une femelle provenant de l'extérieur du groupe social qui occupait la position dominante une semaine après le retrait de la femelle dominante. Cette prise de pouvoir s'est produite aussi tôt que le 1^{er} jour d'ascension sociale dans deux groupes et entre les jours 1 et 6 pour le troisième. Au jour 1 de ce troisième groupe, c'était l'AR1 qui était en ascension sociale. On ignore la provenance et le statut social préalable des 3 femelles inconnues, mais elles ne provenaient pas de groupes voisins immédiats. La hiérarchie des groupes contrôles est demeurée stable durant toute la durée de l'expérience.

4.1.2. Linéarité de la hiérarchie suivant le retrait de la femelle dominante

La linéarité, et donc la stabilité, de la hiérarchie de dominance était plus faible au départ dans les groupes stables qu'escompté chez cette espèce. En effet, la moyenne de l'indice de linéarité ($h' = 0.7$) était plus faible que la valeur qui reflète une linéarité parfaite ($h' = 0.8$). Une majorité de groupes ayant plusieurs subordonnés de même sexe connaissent donc des tensions internes qui déstabilisent la hiérarchie de dominance. Cet indice de linéarité était significativement diminué au sein des groupes expérimentaux au 1^{er} jour de l'ascension sociale. Au jour 6 de l'ascension sociale, l'indice de linéarité avait

une valeur intermédiaire puisqu'il ne différait ni de l'indice initial ni de l'indice au jour 1. Le processus d'ascension sociale est donc progressif puisque la nouvelle hiérarchie de dominance n'était pas encore pleinement établie à la fin de l'étude.

4.1.3. Changements physiologiques et comportementaux durant l'ascension sociale

Une semaine après le retrait des femelles dominantes, les femelles ascendantes étaient plus courtes, plus légères mais avaient un facteur de condition plus élevé que les femelles dominantes. L'indice de dominance des femelles ascendantes avait aussi rejoint celui des femelles dominantes stables et était plus élevé que celui des femelles subordonnées après six jours d'ascension sociale. Les femelles ascendantes sont donc plus agressives que les femelles subordonnées. Au même moment, les femelles ascendantes effectuaient aussi beaucoup plus de comportements sociaux que les femelles subordonnées stables et presque plus que les femelles dominantes stables. De plus, toujours après six jours d'ascension sociale, les femelles ascendantes effectuaient plus de comportements de coopération que les femelles dominantes stables. Ainsi, physiologiquement et comportementalement, les femelles ascendantes ne sont pas encore indistinguables des femelles dominantes stables après une semaine d'ascension sociale.

L'interaction avec le mâle dominant est positivement corrélée avec l'indice de dominance, l'indice social et l'indice de dominance total des femelles. Tel qu'escompté, les femelles dominantes interagissent donc plus avec les mâles dominants. Par contre, les femelles ascendantes au 6^e jour n'interagissent pas plus avec le mâle dominant de leur groupe que les femelles demeurées subordonnées, peut être du au fait que le mâle dominant passant peu de temps sur le territoire (Desjardins et al. 2008a), ces comportements sont rares.

L'utilisation de l'analyse en composante principale a permis de trouver les descripteurs principalement responsables de la variance entre les femelles des trois statuts sociaux. En effet, la CP1, expliquant près de 30 % de la variance, disperse les

femelles en fonction de leur statut social, principalement selon leur indice de dominance et leur masse. Sur cet axe, on retrouve les femelles ascendantes d'abord, puis les femelles dominantes et enfin les femelles subordonnées. Ainsi, certaines femelles ascendantes ont un phénotype distinct, situé au-delà de celui des femelles dominantes selon cet axe de variance, alors que certaines se superposent avec un phénotype stable. Les femelles ascendantes semblent donc se séparer en trois groupes: les « super dominantes » (ascendantes 3, 4 et 6), les ascendantes ressemblant à une femelle dominante (1 et 2) alors que l'ascendante 5 ressemble plutôt à une femelle subordonnée. Il peut en être déduit que l'évolution temporelle du phénotype ascendant est variable, sans doute en fonction du milieu social immédiat (groupe social).

Pour sa part, la CP2, expliquant 18,2 % de la variance entre les femelles, explique plutôt la variation au sein d'un statut social tel que majoritairement déterminé par l'activité totale des femelles, l'alimentation, le temps passé dans la chambre de reproduction et les subordinations données. C'est donc en fait la variation interindividuelle qui est représenté par la CP2. Les femelles ascendantes sont moins étendues sur cette composante que les femelles dominantes et subordonnées stables. À ce moment, les femelles ascendantes sont peut-être déjà au maximum de leurs capacités afin d'établir leur nouveau statut et ont ainsi des fréquences comportementales moins variables que les femelles dominantes et subordonnées stables dont la situation au sein du groupe et leur degré de motivation peuvent être plus diversifiés.

Le fait qu'aucun comportement spécifique ne se distingue dans son implication dans l'une ou l'autre des PC, incluant les déterminants de l'ascension sociale soit degré de coopération et la masse, complique l'interprétation de ces résultats et laisse présager la complexité des relations sociales chez ces femelles. Les biopuces devraient nous permettre de clarifier la façon dont se produit cette variation en trouvant les voies métaboliques impliquées dans l'ascension à la dominance et dans les changements de comportements associés.

4.2. Déterminants de l'ascension sociale

4.2.1. Le degré de coopération détermine l'identité de la future femelle ascendante

Les déterminants de l'ascension sociale, soit les fréquences comportementales ou les mesures physiologiques prédisant l'identité de l'individu qui entrera en ascension sociale lors de la prochaine opportunité d'ascension sociale, étaient trouvés en comparant les futures femelles ascendantes aux femelles des mêmes groupes qui demeureraient subordonnées. Il est à noter qu'aucun déterminant n'est trouvé si l'on ne compare pas directement les femelles ascendantes aux femelles non ascendantes du même groupe social. Ainsi, il existe une forte composante intragroupe qui semble moduler la fréquence de comportements nécessaires pour devenir la femelle dominante de ce groupe. Les groupes ont donc certainement des microenvironnements différents ainsi que des compositions de groupes diverses qui modulent le degré de compétition et le niveau d'aide nécessaire au sein du groupe (Heg et al. 2004a, 2005, Balshine et al. 2001).

L'indice de coopération, comprenant les soins aux œufs et aux jeunes, la défense et l'entretien du territoire, est le seul déterminant significatif de l'identité de la femelle subordonnée qui entrera en ascension sociale au sein d'un groupe lorsque l'occasion se présentera. La femelle AR subordonnée, mature sexuellement, aidant le plus au sein d'un groupe est la femelle qui entrera en ascension sociale, peu importe sa masse et le degré d'agressivité qu'elle exprime par rapport aux autres femelles subordonnées du groupe.

L'indice de coopération n'est pas corrélé à l'indice de dominance et n'est pas un contributeur majeur de la CP1, bien qu'il y participe plus que sa contribution prédite. Ceci semble corroborer le fait que ce comportement soit fortement influencé par la dynamique spécifique d'un groupe plutôt que contrôlé uniquement par son statut social. Par contre, l'indice de coopération est significativement corrélé positivement avec les

agressions données par la femelle, l'indice social et l'indice de dominance total. Tel que mentionné précédemment, les femelles ascendantes accroissent drastiquement leurs interactions sociales non agressives avec les autres membres du groupe après six jours d'ascension sociale. Les membres des groupes sociaux de *N. pulcher* surveillent constamment les comportements des autres membres du groupe (observation personnelle). Les comportements sociaux et affiliatifs pourraient potentiellement servir de système de renforcement pour confirmer de manière non agressive la position des individus au sein de la hiérarchie de dominance tel que déterminé par leur niveau de coopération effectué au sein du groupe.

4.2.2. La masse détermine l'identité de la future femelle ascendante

La masse n'est pas un déterminant parfait de l'identité de la future femelle ascendante, mais il existe une forte tendance pour que ce soit le cas. Ainsi, le déterminant comportemental, soit l'indice de coopération, prime sur la masse lorsqu'il s'agit de prédire l'identité de la future femelle ascendante d'un groupe. La longueur standard est corrélée positivement avec la masse chez les individus mais ne prédit pas l'ascension sociale. Ajoutons que, puisque l'aide et la masse ne sont pas corrélés entre eux, leur influence semble donc être indépendante. Ceci démontre la flexibilité et complexité des interactions entre les individus de cette espèce.

Ce déterminant n'est pas surprenant puisqu'il est important dans la formation de la hiérarchie de dominance chez plusieurs espèces (Clutton-Brock et al. 2006, Fitzpatrick et al. 2008, Archie et al. 2006, Paull et al. 2010). Pourtant, il est peut-être erroné de penser que la hiérarchie de dominance de *N. pulcher* est basée sur la taille tel que suggéré, sans bases statistiques ni références, par Bender et al. (2008) et Fitzpatrick et al. (2008) puisque l'indice de coopération est un déterminant plus fiable que la masse pour prédire l'identité de la future femelle ascendante au sein d'un groupe social.

4.3. Support de l'hypothèse du prestige social

Les résultats de cette étude pourraient confirmer l'hypothèse du « payer-pour-se-reproduire » où la coopération pourrait avoir évolué pour éventuellement mener à la reproduction (Zahavi 1995). Heg et al. (2009) ont trouvé en laboratoire que la reproduction simultanée de femelles *N. pulcher* dominantes et subordonnées pouvait expliquer le degré de coopération. Par contre, en nature, la reproduction de femelles subordonnées serait difficilement observable et donc les bénéfices directs requis pour prouver l'hypothèse du « payer-pour-se-reproduire » ne peuvent être observées ou confirmées par l'étude présente. Dans ce cas, l'hypothèse du prestige sociale semble mieux s'appliquer aux résultats de cette étude.

Cette étude semble supporter l'hypothèse du prestige social pour expliquer la reproduction coopérative au sein des groupes sociaux de *N. pulcher*. Rappelons que cette hypothèse est associée à la théorie de l'handicap, donc l'utilisation d'un comportement « nuisible » pour indiquer de manière honnête la qualité de l'individu et ainsi développer un prestige social (Zahavi 1975). Ce prestige social pourrait mener à des avantages tels qu'hériter du territoire et du statut social dominant et reproducteur au sein d'un groupe social. Nous savons aussi que le système de reconnaissance sociale requis afin de mémoriser le prestige associé aux autres membres du groupe social (Buston et Balshine 2007) est présent chez *N. pulcher* (Hert 1985, Balshine-Earn and Lotem 1998a, Jordan et al. 2009, Le Vin et al. 2010). La condition du signal honnête car coûteux est aussi remplie puisque Grantner et Taborsky (1998) et Taborsky et Grantner (1998) ont montré qu'un comportement coopératif d'entretien du territoire est très coûteux métaboliquement pour les subordonnés. Finalement, comme nous venons de le voir, le seul déterminant significatif de l'ascension sociale chez les femelles *N. pulcher* est l'indice de coopération, confirmant ainsi l'utilisation d'un comportement coûteux pour déterminer l'identité de la future femelle dominante du groupe, tel que suggéré théoriquement pour cette espèce (Lotem et al. 1999, Wong et Balshine, soumis), dont la fréquence d'expression n'est pas déterminée par le statut social.

L'indice de coopération n'est par contre pas corrélé au facteur de condition de Fulton. Ce facteur reconnu, relié à la capacité reproductrice, a été utilisé dans cette étude dans un souci de standardiser le calcul du facteur de condition de *N. pulcher* avec celui utilisé chez d'autres espèces (Ricker 1975). Un autre indice avait cependant été utilisé par Aubin-Horth et al. (2007), mesurant plutôt l'énergie stockée (Helfman et al. 1997), et ce facteur de condition était plus élevé chez les dominants que les subordonnés. Le facteur de condition de Fulton est peut-être moins approprié pour l'étude de *N. pulcher* que celui utilisé par Aubin-Horth et al. (2007). Il est probable que les femelles subordonnées aient une capacité de reproduction supérieure puisqu'elles se préparent à se reproduire rapidement lors d'une opportunité sociale alors que les femelles dominantes pouvaient avoir pondu depuis peu et avoir un investissement moins grand dans la reproduction à ce moment dans le temps. L'énergie stockée pourrait par contre montrer un patron différent.

4.4. Niveau de testostérone plasmatique selon les statuts sociaux

Le niveau de T plasmatique ne varie pas significativement entre les statuts sociaux et n'est pas corrélé avec l'ID. Les niveaux moyens de T plasmatique sont similaires entre les femelles ascendantes et subordonnées et tendent à être légèrement supérieurs au niveau moyen de T des femelles dominantes stables sans l'être significativement. Ceci pourrait être expliqué par le fait que le niveau plasmatique de T des femelles ascendantes et subordonnées est aussi extrêmement variable alors que celui des femelles dominantes stables est moins étendu.

L'absence de lien entre le niveau de T et le statut social diffère de l'étude de Desjardins et al. (2008b), qui ont trouvé un niveau de T plasmatique plus élevé chez les femelles dominantes que subordonnées en nature. L'échantillonnage différait entre ces deux études puisque Desjardins et al. (2008b) ont utilisé des femelles subordonnées matures sans contrôler leur position dans la hiérarchie de dominance alors que l'étude présente utilisait des AR1 uniquement dans le groupe des femelles subordonnées stables.

Les résultats des deux études pourraient être complémentaires puisque les femelles subordonnées AR2 et plus seraient réprimées reproductivement, tel que reflété par leur niveau de T plasmatique, alors que les AR1 se prépareraient à devenir dominantes en entretenant un niveau élevé de T afin de se reproduire plus rapidement dès qu'elles en ont l'occasion. Une seconde hypothèse est que les niveaux de T plasmatique mesurés par Desjardins et al. (2008b) ont été récoltés sur une période de sept mois, donc le niveau de T trouvé chez les femelles dominantes devait refléter le niveau moyen au cours du cycle reproducteur, qui est synchronisé avec le cycle lunaire (Balshine et al. 2001, Sopinka et al. 2009). Les femelles de la présente étude ont plutôt été récoltées en un peu plus d'une semaine. Les femelles dominantes pouvaient donc se trouver dans le creux de leur cycle reproducteur quant au niveau de T (Kime 1993) alors que les femelles subordonnées, qui ne se reproduisent pas encore, seraient désynchronisées, expliquant la forte variance retrouvée. Cette explication est soutenue par le fait que les niveaux de T mesurés sont corrélés négativement avec l'indice hépato somatique de nos femelles. Sopinka et al. (2009) ont trouvé une influence du cycle lunaire sur l'investissement hépatique des femelles dominantes. Ainsi, nous pouvons déduire rétrospectivement que nous avons récolté les femelles près du milieu du mois lunaire où l'investissement hépatique est à son maximum mais où la T n'est pas à son niveau maximal (Kime 1993, Sopinka et al. 2009).

Le niveau plasmatique de T est aussi corrélé positivement à l'activité totale des femelles, potentiellement par le biais de l'augmentation des niveaux de T suite à l'activité physique (Schmidt et al. 1982, Esbjörnsson et al. 2009) plutôt qu'en lien avec la variation de T associée à l'activité reproductive. Le niveau de T plasmatique n'est pas corrélé à l'indice de dominance ni à l'indice social et n'est donc pas un déterminant de la future femelle ascendante du groupe social.

5. Conclusions et perspectives

Cette étude est la première, à notre connaissance, à trouver un déterminant comportemental expliquant l'identité du futur individu ascendant dans une hiérarchie de dominance. Un déterminant physiologique, la masse, vient compléter le déterminant comportemental, permettant une prédiction fiable de la future femelle ascendante d'un groupe social chez *N. pulcher*. Les hypothèses concernant l'importance du degré de coopération et de la masse de la femelle sur la position dans la hiérarchie sociale se sont avérées. Le niveau de testostérone plasmatique n'est pas un déterminant de l'identité de la future femelle ascendante selon l'étude présente, mais quelques réserves doivent être émises, notamment dues à la courte période d'échantillonnage ne reflétant pas l'entièreté du cycle reproducteur. Il est cependant important de noter l'importance du groupe social sur la modulation de la fréquence de certains comportements chez les femelles, spécialement sur les comportements coopératifs. Le microenvironnement d'un territoire et la composition du groupe sont donc des facteurs majeurs qui ne doivent pas être mis de côté lors de l'étude d'espèce aussi développée socialement que *N. pulcher*.

Les résultats de cette étude viennent aussi conforter l'hypothèse du prestige social pour expliquer la coopération exercée par les subordonnées matures de cette espèce à reproduction coopérative. Cette contribution sera importante pour l'espèce, puisque l'hypothèse du prestige sociale n'a jamais été étudiée chez *N. pulcher* (Wong et Balshine, soumis). Ayant trouvé une forte corrélation entre les comportements de coopération et les comportements sociaux, ceux-ci devraient définitivement être pris en considération lors des prochaines études sur la reproduction coopérative chez *N. pulcher*. En effet, les comportements sociaux pourraient servir au transfert d'information, au renforcement de la reconnaissance ou de la position au sein de la hiérarchie de dominance entre les individus.

L'hypothèse du prestige social n'écarte cependant pas la possibilité que la motivation à coopérer au sein d'un groupe social puisse être partiellement motivée par l'augmentation de la taille du groupe chez les AR matures ainsi que pour « payer-pour-rester » ou « payer-pour-se-reproduire ». Simplement, ces hypothèses n'ont pas été

testées dans cette étude qui visait à découvrir les mécanismes par lesquels les femelles dominantes d'un groupe étaient déterminées. Pour démontrer l'hypothèse de l'augmentation de la taille du groupe, il faudrait montrer que les groupes plus importants reçoivent la visite de moins de prédateurs, ce qui n'a jamais été démontré et qui ne fut pas été mesuré dans cette étude. Une autre possibilité serait de démontrer que les AR exercent moins d'actes d'aide dans les groupes comptants plus de membres, ce qui a été démontré en nature (Balshine et al. 2001). L'hypothèse de « payer-pour-rester » a été testée en nature en établissant la proximité génétique des membres de groupes sociaux et en démontrant ainsi que les AR effectues plus d'actes coopératifs dans les groupes sociaux non apparentés (Stiver et al. 2005). Finalement, l'hypothèse de « payer-pour-se-reproduire » pourrait être confirmée si une corrélation était trouvée entre la quantité d'aide exercée par les AR et le niveau de reproduction immédiate parasitée aux individus dominants du groupe sociaux. Cette hypothèse fut suggérée dans une étude de laboratoire en l'absence de prédateurs (Heg et al. 2009).

Nous avons aussi découvert que l'ascension sociale est progressive, particulièrement en ce qui a trait aux changements physiologiques, durant plus d'une semaine. De plus, les femelles ascendantes, plutôt que de présenter un phénotype comportemental intermédiaire au cour de l'ascension sociale avait plutôt un phénotype complètement distinct, encore plus prononcé en terme de sociabilité et de coopération au sein du groupe, de celui des femelles dominantes stables.

Dans le futur, une étude semblable avec un échantillon plus large pourrait permettre de découvrir la provenance ou le statut social occupé précédemment par les femelles ascendantes inconnues que nous avons retrouvées chez certains de nos groupes sociaux expérimentaux. Une façon d'obtenir ces informations serait de vérifier le degré d'apparentement des membres du groupe social avec la femelle inconnue ou trouver sa population d'origine à l'aide de marqueurs génétiques disponibles (Stiver et al. 2005).

L'usage du facteur de condition utilisé par Aubin-Horth et al. (2007) est fortement suggéré pour les prochaines études sur *N. pulcher*. De plus, le niveau d'estradiol

plasmaticque devrait être mesuré sur les femelles en nature puisque celui-ci pourrait potentiellement prédire le statut social, ce que la testostérone ne permet pas selon cette étude. Bender et al. (2008) trouvent un effet du statut social sur le niveau d'estradiol des femelles, les dominantes en ayant plus que les femelles en agrégation (non territoriale et sans groupe social) et tendant à en avoir plus que les femelles AR subordonnées. Lorsque la mesure d'hormones doit être faite, il est recommandé d'échelonner l'échantillonnage des femelles dominantes sur une période d'au moins un cycle lunaire afin d'avoir une moyenne plus représentative des niveaux des hormones impliquées dans le cycle reproducteur.

Finalement, la base de la hiérarchie sociale chez *N. pulcher* doit être revue puisque le degré de coopération est plus important que la masse dans la détermination de la position au sein de la hiérarchie de dominance contrairement à ce qui a été avancé précédemment (Bender et al. 2008, Fitzpatrick et al. 2008). De plus, la hiérarchie de dominance de cette espèce est moins linéaire que ce qui était présumé jusqu'à présent.

6. Contributions et déclarations

Sophie St-Cyr a élaboré l'expérience et le protocole, les objectifs et les hypothèses avec Dre. Sigal Balshine et Dre. Nadia Aubin-Horth. SS, Dre. SB, Dre. Marian Y. Wong, Susan Marsh-Rollo et Jennifer Reynolds ont effectuées les observations comportementales, l'échantillonnage des individus, pris les mesures physiologiques et prélevé le plasma sanguin, les gonades et le foie sur le terrain. SS a prélevé les cerveaux sur le terrain. SS a extrait les stéroïdes du plasma et effectué les immunoessais enzymatiques sous la supervision NAH. SS a effectué les analyses statistiques, incluant les ACP sous la supervision de NAH et SB. SS a écrit l'article avec SB et NAH. SS a extrait, purifié, quantifié et amplifié l'ARN des cerveaux sous la supervision de NAH. NAH a imprimé et fournit les biopuces. SS a activé, hybridé, scanné, déterminé le patron de comparaison et effectué la filtration et les analyses de l'image sur les biopuces sous la supervision de NAH.

7. Bibliographie

Albers H.E., Huhman K.L., R.L. Meisel. 2002. Hormones and behavior vol. 1. Éd. Pfaff D.W., Arnold A.P., Etgen A.M., Fahrbach S.E., Rubin R.T. Academic Press, New York, États-Unis.

Archie E.A., Morrison T.A., Foley C.A.H., Moss C.J., Alberts S.C. 2006. Dominance rank relationships among wild female African elephants, *Loxodonta Africana*. Anim Behav. 71; 117-127.

Aubin-Horth N., Desjardins J.K., Martei Y.M., Balshine S., Hofmann H.A. 2007. Masculinized females in a cooperatively breeding species. Mol Ecol. 16; 1349-1358.

Balshine S., Leach B., Neat F., Reid H., Taborsky M. Werner N. 2001. Correlates of group size in a cooperatively breeding cichlid fish (*Neolamprologus pulcher*). Behav Ecol Sociobiol. 50; 134-140.

Balshine-Earn S., Lotem A. 1998. Individual recognition in a cooperatively breeding cichlid: evidence from vidéo playback experiments. Behaviour. 135; 369-386.

Balshine-Earn S., Neat F.C., Reid H., Taborsky M. 1998. Paying to stay or paying to breed? Field evidence for direct benefits of helping behavior in a cooperatively breeding fish. Behav Ecol. 9; 432-438.

Bayly K.L., Evans C.S., Taylor A. 2006. Measuring social structure: a comparison of eight dominance indices. Behav Proc. 73; 1-12.

Beaugrand J.P. 1997. Resolution of agonistic conflicts in dyads of acquainted green swordtails (*Xiphophorus helleri*): a game with perfect information. Behav Processes. 41; 79-96.

Becker G., Flaherty T.B. 1968. Group size as a determinant of dominance hierarchy stability in the rat. J Comp Physiol Psychol. 66; 473-476.

- Bender N., Heg-Bachar Z., Oliveira R.F., Canario A.V.M., Taborsky M.** 2008. Hormonal control of brood care and social status in a cichlid fish with brood care helpers. *Physiol Behav.* 94; 349-358.
- Bennet N.C., Faulkes C.G., Molteno A.J.** 1996. Reproductive suppression in subordinate, non-breeding female Damaraland mole-rats: two components to a lifetime of socially induced infertility. *Proc Biol Sci.* 263; 1599-1603.
- Bergmüller R., Heg D., Taborsky M.** 2005. Helpers in a cooperatively breeding cichlid stay and pay or disperse and breed, depending on ecological constraints. *Proc Biol Sci.* 272; 325-331.
- Bergmüller R., Taborsky M.** 2005. Experimental manipulation of helping in a cooperative breeder: helpers 'pay-to-stay' by pre-emptive appeasement. *Anim Behav.* 69; 19-28.
- Bergmüller R., Johnstone R.A., Russel A.F., Bshary R.** 2007. Integrating cooperative breeding into theoretical concepts of cooperation. *Behav Proc.* 76; 61-72.
- Bernhardt P.C., Dabbs J.M. Jr., Fielden J.A., Lutter C.D.** 1998. Testosterone changes during vicarious experiences of winning and losing among fans at sporting events. *Physiol Behav.* 65; 59-62.
- Blanchard D.C., Blanchard R.J.** 1990. Behavioral correlates of chronic dominance-subordination relationships of male rats in a seminatural situation. *Neurosci Biobehav Rev.* 14; 455-462.
- Boice R., Quanty C.B., Williams R.C.** 1974. Competition and possible dominance in turtles, toads, and frogs. *J Comp Physiol Psychol.* 86; 1116-1131.
- Brett R.A.** 1991. Reproduction in naked mole-rats. Éd. Sherman P.W., Jarvis J.U.M., Alexander R.D. Princeton University Press, Princeton, États-Unis. p. 67-96.

- Brouwer L., Heg D., Taborsky M.** 2005. Experimental evidence for helper effects in a cooperatively breeding cichlid. *Behav Ecol.* 16; 667-673.
- Brown J.L.** 1987. Helping and communal breeding in birds : Ecology and evolution. Princeton University Press, Princeton, États-Unis.
- Bruintjes R., Taborsky M.** 2008. Helpers in a coopérative breeder pay a high price to stay: effects of demand, helper size and sex. *Anim Behav.* 75; 1843-1850.
- Buchner A.S., Sloman K.A., Balshine S.** 2004. The physiological effects of social status in the cooperatively breeding cichlid *Neolamprologus pulcher*. *J Fish Biol.* 65; 1080-1095.
- Buston P.** 2003. Size and growth modification in clownfish. *Nature.* 424; 145-146.
- Buston P.M., Balshine S.** 2007. Cooperating in the face of uncertainty: A consistent Framework for understanding the evolution of cooperation. *Behav Proc.* 76; 152-159.
- Callard G.V., Petro Z., Ryan K.J.** 1978. Conversion of androgen to estrogen and other steroids in the vertebrate brain. *Amer Zool.* 18; 511-523.
- Calsbeek R., Sinervo B.** 2002. The ontogeny of territoriality during maturation. *Oecologia.* 132; 468-477.
- Cant M.A., English S., Reeve H.K., Field J.** 2006. Escalated conflict in a social hierarchy. *Proc Biol Sci.* 273; 2977-2984.
- Carlisle T.R., Zahavi A.** 1986. Helping at the nest, allofeeding and social-status in immature Arabian babblers. *Behav Ecol Sociobiol.* 18; 339-351.
- Christiansen K.** 2001. Behavioural effects of androgen in men and women. *J Endocrinol.* 170; 39-48.

- Chu J., Marler C.A., Wilczynski W.** 1998. The effects of arginine vasotocin on the calling behavior of male cricket frogs in changing social contexts. *Horm Behav.* 34; 248-261.
- Churchill G.A.** 2002. Fundamentals of experimental design for cDNA microarrays. *Nat Genet.* 32;490-495.
- Clarke F.M., Faulkes C.G.** 1998. Hormonal and behavioural correlates of male dominance and reproductive status in captive colonies of the naked mole-rat, *Heterocephalus glaber*. *Proc Biol Sci.* 265; 1391-1399.
- Clutton-Brock T.** 2002. Breeding together: kin selection and mutualism in cooperative vertebrates. *Science.* 296; 69-72.
- Clutton-Brock T.H., Hodge S.J., Spong G., Russel A.F., Jordan N.R., Bennett N.C., Sharpe L.L., Manser M.B.** 2006. Intrasexual competition and sexual selection in cooperative mammals. *Nature.* 444; 1065-1068.
- Cockburn A.** 1998. Evolution of helping behaviour in cooperatively breeding birds. *Ann Rev Ecol Syst.* 29; 141-177.
- Cockburn A., Osmond H.L., Mulder R.A., Double M.C., Green D.J.** 2008. Demography of male reproductive queues in cooperatively breeding superb fairy-wrens *Malurus cyaneus*. *J Anim Ecol.* 77; 297-304.
- Coeckelberghs V.** 1975. Territorial, spawning and parental behaviour of *Lamproogus brichardi* Poll 1974 (Pisces, Cichlidae). *Ann Soc Roy Zool Belg.* 10; 73-86.
- Dawkins R.** 1976. Selfish gene. Oxford University Press, Oxford, États-Unis.
- Desjardins J.K., Hazelden M.R., Van des Kraak G.J., Balshine S.** 2005. Male and female cooperatively breeding fish provide support for the “Challenge hypothesis”. *Behav Ecol.* 17; 149-154.

- Desjardins J.K., Fitzpatrick J.L., Stiver K.A., Van Der Kraak G.J., Balshine S.** 2008a. Costs and benefits of polygyny in the cichlid *Neolamprologus pulcher*. *Anim Behav.* 75; 1771-1779.
- Desjardins J.K., Stiver K.A., Fitzpatrick J.L., Milligan N., Van Der Kraak G., Balshine S.** 2008b. Sex and status in a cooperative breeding fish: behavior and androgen. *Behav Ecol Sociobiol.* 62; 785-794.
- De Vries H.** 1995. An improved test of linearity in dominance hierarchies containing unknown or tied relationship. *Anim Behav.* 50; 1375-1389.
- De Vries H.** 1998. Finding a dominance order most consistent with a linear hierarchy: a new procedure and review. *Anim Behav.* 55; 827-843.
- De Vries H., Appleby M.C.** 2000. Finding an appropriate order for a hierarchy: a comparison of the I&SI and the BBS methods. *Anim Behav.* 59; 239-245.
- Dierkes P., Taborsky M., Kohler U.** 1999. Reproductive parasitism of broodcare helpers in a cooperatively breeding fish. *Behav Ecol.* 10; 510-515.
- Dierkes P., Heg D., Taborsky M., Skubic E., Achmann R.** 2005. Genetic relatedness in groups is sex-specific and declines with age of helpers in a cooperatively breeding cichlid. *Ecol Lett.* 8; 968-975.
- Dierkes P., Taborsky M., Achmann R.** 2008. Multiple paternity in the cooperatively breeding fish *Neolamprologus pulcher*. *Behav Ecol Sociobiol.* 62; 1581-1589.
- Dugatkin L.A.** 1997. Winner and loser effects and the structure of dominance hierarchies. *Behav Ecol.* 8; 583-587.
- Dugatkin L.A., Druen M.** 2004. The social implications of winner and loser effects. *Proc Biol Sci.* 271; S488-S489.

Early R.L., Dugatkin L.A. 2002. Eavesdropping on visual cues in green swordtail (*Xiphophorus helleri*) fights: a case for networking. *Proc Biol Sci.* 269; 943-952.

Esbjörnsson M., Norman B., Suchdev S., Viru M., Lindhgren A., Jansson E. 2009. Greater growth hormone and insulin response in women than in men during repeated bouts of sprint exercise. *Acta Physiol.* 197; 107-115.

Faulkes C.G., Abbott D.H. 1997. Cooperative breeding mammals. Éd. Solomon N.G., French J.A. University Press, Cambridge, Grande-Bretagne. p. 302-334.

Fitzpatrick J.L., Desjardins J.K., Stiver K.A., Montgomerie R., Balshine S. 2006. Male reproductive suppression in the cooperatively breeding fish *Neolamprologus pulcher*. *Behav Ecol.* 17; 25-33.

Fitzpatrick J.L., Desjardins J.K., Milligan N., Stiver K.A., Montgomerie R., Balshine S. 2008. Female-mediated causes and consequences of status change in a social fish. *Proc Biol Sci.* 275, 929-936.

Foster K.R., Wenseleers T., Ratnieks F.L.W. 2006. Kin selection is the key to altruism. *Trends Ecol Evol.* 21; 57-60.

Frostman P., Sherman P.T. 2004. Behavioral response to familiar and unfamiliar neighbors in a territorial cichlid, *Neolamprologus pulcher*. *Ichtyol Res.* 51; 283-285.

Gaston A.J. 1978. The évolution of group territorial behavior and cooperative breeding. *Am Nat.* 112; 1091-1100.

Goymann W., Wingfield J.C. 2004. Competing females and caring males. Sex steroid in African black coucals, *Centropus grillii*. *Anim Behav.* 68; 733-740.

- Grantner A., Taborsky M.** 1998. The metabolic rates associated with resting, and with the performance of agonistic, submissive and digging behaviours in the cichlid fish *Neolamprologus pulcher* (Pisces: Cichlidae). *J Comp Physiol B.* 168; 427-433.
- Grosenick L., Clement T.S., Fernald R.D.** 2007. Fish can infer social rank by observation alone. *Nature.* 445; 429-432.
- Hamilton W.D.** 1964. The genetical evolution of social behaviour I. *J Theor Biol.* 7; 1-16.
- Hamilton I.M., Heg D., Bender N.** 2005. Size differences within a dominance hierarchy influence conflict and help in a cooperatively breeding cichlid. *Behaviour.* 142; 1591-1613.
- Hamilton I.M., Heg D.** 2008. Sex differences in the effect of social status on the growth of subordinates in a cooperatively breeding cichlid. *J Fish Biol.* 72; 1079-1088.
- Hard M.L., Abdoell M., Robinson B.H., Koren G.** 2005. Gene-expression analysis after alcohol exposure in the developing mouse. *J Lab Clin Med.* 145; 47-54.
- Heg D., Bachar Z., Brouwer L., Taborsky M.** 2004a. Predation risk is an ecological constraint for helper dispersal in a cooperatively breeding cichlid. *Proc Biol Sci.* 271; 2367-2374.
- Heg D., Bender N., Hamiton I.** 2004b. Strategic growth decisions in helper cichlids. *Proc Biol Sci.* 271; S505-S508.
- Heg D., Brouwer L., Bachar Z., Taborsky M.** 2005. Large group size yields group stability in the cooperatively breeding cichlid *Neolamprologus pulcher*. *Behaviour.* 142; 1615-1641.
- Heg D.** 2008. Reproductive suppression in female cooperatively breeding cichlids. *Biol Lett.* 4; 606-609.

- Heg D., Hamilton I.M.** 2008. Tug-of-war over reproduction in a cooperatively breeding cichlid. *Behav Ecol Sociobiol.* 62; 1249-1257.
- Heg D., Jutzeler E., Mitchell J.S., Hamilton I.M.** 2009. Helpful female subordinate cichlids are more likely to reproduce. *PLoS One.* 4; e5458-e5463.
- Heinze J.** 2008. Hierarchy length in orphaned colonies of the ant *Temnothorax nylanderi*. *Naturwissenschaften.* 95; 757-760.
- Helfman G., Collette B., Facey D.** 1997. The diversity of fishes. Blackwell Publishing, Malden, États-Unis.
- Hendricks D.E., Seay B., Barnes B.** 1975. The effects of the removal of dominant animals in a Small group of *Macaca fascicularis*. *J Gen Psychol.* 92; 157-168.
- Hert E.** 1985. Individual recognition of helpers by the breeders in the cichlid fish *Lamprologus brichardi* (Poll, 1974). *Z Tierpsychol.* 68; 313-325.
- Hofmann H.A., Fernald R.D.** 2001. What cichlids tell us about the social regulation of brain and behaviour. *J Aquacult Aquat Sci.* 9; 17-31.
- Huntingford F., Turner A.** 1984. Animal conflict. Chapman et Hall, Londres, Grande-Bretagne.
- Jolly A.** 1984. Female primates: studies by women primatologists. Éd. Small M. Alan R. Liss, New York, États-Unis. 197-215.
- Jordan L.A., Wong M.Y.L., Balshine S.S.** 2009. The effects of familiarity and social hierarchy on group membership decisions in a social fish. *Biol Lett.* 6; 301-303.
- Kappeler P.M.** 1990. Female dominance in *Lemur catta*, more than just female feeding priority? *Folia Primatol.* 55; 92-95.

- Kendall M.G.** 1955. Rank correlation methods. Charles Griffin and Co. Ltd., Londres, Grande-Bretagne.
- Ketterson E.D., Nolan V. Jr., Sandell M.** 2005. Testosterone in females: Mediator of adaptive traits, constraint on sexual dimorphism, or both? *Am Nat.* 166; S85-S98.
- Kime D.E.** 1993. 'Classical' and 'non-classical' reproductive steroids in fish. *Rev Fish Biol Fish.* 3; 160-180.
- Kimura N., Mizokami A., Oonuma T., Sasano H., Nagura H.** 1993. Immunocytochemical localization of androgen receptor with polyclonal antibody in paraffin-embedded human tissues. *J Histochem Cytochem.* 41; 671-678.
- Kokko H., Johnstone R.A., Clutton-Brock T.H.** 2001. The evolution of cooperative breeding through group augmentation. *Proc Biol Sci.* 268; 187-196.
- Komdeur J., Edelaar P.** 2001. Evidence that helping at the nest does not result in territory inheritance in the Seychelles warbler. *Proc R Soc Lond B.* 268; 2007-2012.
- Legendre P., Legendre L.** 1998. Numerical Ecology. Elsevier Science B.V., Amsterdam, Pays-Bas. p. 387-480.
- Less E.H., Lukas K.E., Kuhar C.W., Stoinski T.S.** 2010. Behavioral response of captive western lowland gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*) to the death of silverbacks in multi-male groups. *Zool Biol.* 29; 16-29.
- Le Vin A.L., Mable B.K., Arnold K.E.** 2010. Kin recognition via phenotype matching in a cooperatively breeding cichlid, *Neolamprologus pulcher*. *Anim Behav.* 79; 1109-1114.
- Lotem A., Wagner R.H., Balshine-Earn S.** 1999. The overlooked signaling component of nonsignaling behavior. *Behav Ecol.* 10; 209-212.

- Margulis S.W., Saltzman W., Abbott D.H.** 1995. Behavioral and hormonal changes in female naked mole-rats (*Heterocephalus glaber*) following removal of the breeding female from a colony. *Horm Behav.* 29; 227-247.
- Martin P., Bateson P.** 1993. Measuring behaviour: an introductory guide. Cambridge University Press, Cambridge, Grande-Bretagne.
- Mench J.A., Ottinger M.A.** 1991. Behavioral and hormonal correlates of social dominance in stable and disrupted groups of male domestic fowl. *Horm Behav.* 25; 112-122.
- Mileva V.R., Fitzpatrick J.L., Marsh-Rollo S., Gilmour K.M., Wood C.M., Balshine S.** 2009. The stress response of the highly social African cichlid *Neolamprologus pulcher*. *Physiol Biochem Zool.* 82; 720-729.
- Miller E.J., Eldridge M.D., Cooper D.W., Herbert C.A.** 2010. Dominance, body size and internal relatedness influence male reproductive success in eastern grey kangaroos (*Macropus giganteus*). *Reprod Fertil Dev.* 22; 539-549.
- Munchrath L.A., Hofmann H.A.** 2010. Distribution of sex steroid hormone receptors in the brain of an African cichlid fish, *Astatotilapia burtoni*. *J Comp Neurol.* 518; 3302-3326.
- Nakano S.** 1995. Individual differences in resource use, growth and emigration under the influence of a dominance hierarchy in fluvial red-spotted masu salmon in a natural habitat. *J Anim Ecol.* 64; 75-84.
- Nelson R.J.** 2000. An introduction to behavioral endocrinology. Sinauer Associates, Sunderland, États-Unis.

- Newman A.E.M., Chin E.H., Schmidt K.L., Bond L., Wynne-Edwards K.E., Soma K.K.** 2008. Analysis of steroids in songbird plasma and brain by coupling solid phase extraction to radioimmunoassay. *Gen Comp Endocrinol.* 155; 503-510.
- Nilson G., Andrén C.** 1982. Function of renal sex secretion and male hierarchy in the adder, *Vipera berus*, during reproduction. *Horm Behav.* 16; 404-413.
- Oleksiak M.F., Churchill G.A., Crawford D.L.** 2002. Variation in gene expression within and among natural populations. *Nat Genet.* 32; 261-266.
- Oliveira R.F., Almada V.C., Canario A.V.M.** 1996. Social modulation of sex steroid concentrations in the urine of male cichlid fish *Oreochromis mossambicus*. *Horm Behav.* 30; 2-12.
- Oliveira R.F., Lopes M., Carneiro L.A., Canário A.V.N.** 2001. Watching fights raises fish hormone levels. *Nature.* 409; 475.
- Parikh V.N., Clement T.S., Fernald R.D.** 2006. Androgen level and male social status in the African cichlid, *Astatotilapia burtoni*. *Behav Brain Res.* 166; 291-295.
- Paull G.C., Filby A.L., Giddins H.G., Coe T.S., Hamilton P.B., Tyler C.R.** 2010. Dominance hierarchies in zebrafish (*Danio rerio*) and their relationship with reproductive success. *Zebrafish.* 7; 109-117.
- Phillips J.A., Alberts A.C., Pratt N.C.** 1993. Differential resource use, growth, and the ontogeny of social relationships in the green iguana. *Physiol Behav.* 53; 81-88.
- Plavicki J., Yang E.J., Wilczynski W.** 2004. Dominance status predicts response to nonsocial forced movement stress in the green anole lizard (*Anolis carolinensis*). *Physiol Behav.* 80; 547-555.

- Poiani A., Fletcher T.** 1994. Plasma levels of androgens and gonadal development of breeders and helpers in the bell miner (*Manorina melanophris*). Behav Ecol Sociobiol. 34; 31-41.
- Rapaport L.G.** 2001. Food transfer among adult lion tamarins: Mutualism, reciprocity or one-sided relationship. Int J Primatol; 22: 611-629.
- R Development Core Team.** 2009. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- Reinhardt V., Reinhardt A.** 1975. Dynamics of social hierarchy in a dairy herd. Z Tierpsychol. 38; 315-323.
- Renn S.C.P., Aubin-Horth N., Hofmann H.A.** 2004. Biologically meaningful expression profiling across species using heterologous hybridization to a cDNA microarray. BMC Genomics. 5;42-54.
- Renn S.C.P., Aubin-Horth N., Hofmann H.A.** 2008. Fish and chips: functional genomics of social plasticity in an African cichlid fish. J Exp Biol. 211; 3041-3056.
- Ricker W.E.** 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. Bull Fish Res Board Can. 191; 1-382.
- Roberts G.** 1998. Competitive altruism: from reciprocity to the handicap principle. Proc Biol Sci. 265; 427-431.
- Saltzburger W., Mack T., Verheyen E., Myer A.** 2005. Out of Tanganyika: genesis, explosive speciation, key-innovations and phylogeography of the haplochromine cichlid fishes. BMC Evol Biol. 5; 17-31.
- Sanchez S., Pelaez F., Gil-Bürmann C.** 2002. Why do cotton-top tamarin female helpers carry infants? A preliminary study. Am J Primatol; 57: 43-49.

- Schena M., Shalon D., Davis R.W., Brown P.O.** 1995. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science*. 270; 467-470.
- Schmidt P., Pusch H.H., Wolf W., Pilger E., Pessenhofer H., Schwabberger G., Pristautz H., Pürstner P.** 1982. Serum FSH, LH, and testosterone in human after physical exercise. *Int J Sports Med*. 3; 84-89.
- Schneider J., Buness A., Huber W., Volz J., Kioschis P., Hafner M., Poustka A., Sultmann H.** 2004. Systematic analysis of T7 RNA polymerase based *in vitro* linear RNA amplification for use in microarray experiments. *BMC Genomics*. 5;29-37.
- Seibert L.M., Crowell-Davis S.L.** 2001. Gender effects on aggression, dominance rank, and affiliative behaviors in a flock of captive adult cockatiels (*Nymphicus hollandicus*). *Appl Anim Behav Sci*. 71; 155-170.
- Semsar K., Godwin J.** 2003. Social influences on the arginine vasotocin system are independent of gonads in a sex-changing fish. *J Neurosci*. 23; 4386-4393.
- Silk J.B., Beehner J.C., Bergman T.J., Crockford C., Engh A.L., Moscovice L.R., Wittig R.M., Seyfarth R.M., Cheney D.L.** 2010. Strong and consistent social bonds enhance the longevity of female baboons. *Curr Biol*. [doi:10.1016/j.cub.2010.05.067](https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.05.067).
- Skubic E., Taborsky M., McNamara J.M., Houston A.I.** 2004. When to parasitize? A dynamic optimization model of reproductive strategies in a cooperative breeder. *J Thor Biol*. 227; 487-501.
- Smyth G.K.** 2005. Limma: linear models for microarray data. In: *Bioinformatics and Computational Biology Solutions using R and Bioconductor*. Éd. Gentleman R., Carey V., Dudoit S., Irizarry R., Huber W. Springer, New York, États-Unis. p. 397-420.

Solomon N.G., French J.A. 1997. Cooperative breeding in mammals. Cambridge University Press, New York, États-Unis.

Sopinka N.M., Fitzpatrick J.L., Desjardins J.K., Stiver K.A., Marsh-Rollo S.E., Balshine S. 2009. Liver sizes as an indicator of social status in an African cichlid fish. *J Fish Biol.* 75; 1-16.

St-Cyr S., Aubin-Horth N. 2009. Integrative and genomics approaches to uncover the mechanistic bases of fish behavior and its diversity. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 152;9-21.

Stiver K.A., Dierkes P., Taborsky M., Balshine S. 2004. Dispersal patterns and status change in a co-operatively breeding cichlid *Neolamprologus pulcher*: evidence from microsatellite analyses and behavioural observations. *J Fish Biol.* 65; 91-105.

Stiver K.A., Dierkes P., Taborsky M., Gibbs L., Balshine S. 2005. Relatedness and helping: testing the theoretical predictions. *Proc Biol Sci.* 272; 1593-1599.

Stiver K.A., Fitzpatrick J., Desjardins J.K., Balshine S. 2006. Sex differences in rates of territory joining and inheritance in a cooperatively breeding cichlid fish. *Anim Behav.* 71; 449-456.

Stiver K.A., Fitzpatrick J., Desjardins J., Neff B., Quinn J., Balshine S. 2008. The role of genetic relatedness among social mates in a cooperative breeder. *Behav Ecol.* 19: 816-823.

Stiver K.A., Fitzpatrick J.L., Desjardins J.K., Balshine S. 2009. Mixed parentage in *Neolamprologus pulcher* groups. *J Fish Biol.* 74; 1129-1135.

Taborsky M., Limberger D. 1981. Helpers in fish. *Behav Ecol Sociobiol.* 8; 143-145.

Taborsky M. 1984. Broodcare helpers in the cichlid fish *Neolamprologus pulcher*: Their costs and benefits. *Anim Behav.* 32, 1236-1252.

- Taborsky M.** 1985. Breeder-helper conflict in a cichlid fish with broodcare helpers – An experimental analysis. *Behaviour*. 95; 45-75.
- Taborsky M., Grantner A.** 1998. Behavioural time-energy budgets of cooperatively breeding *Neolamprologus pulcher* (Pisces: Cichlidae). *Anim Behav*. 56; 1375-1382.
- Taborsky B., Skubic E., Bruintjes R.** 2007. Mothers adjust egg size to helper number in a cooperatively breeding cichlid. *Behav Ecol*. 18; 652-657.
- Tamara Montrose V., Edwin Harris W., Moore A.J., Moore P.J.** 2008. Sperm competition within a dominance hierarchy: investment in social status vs. investment in ejaculates. *J Evol Biol*. 21; 1290-1296.
- Taves M.D., Desjardins J.K., Mishra S., Balshine S.** 2009. Androgens and dominance: sex-specific patterns in a highly social fish (*Neolamprologus pulcher*). *Gen Comp Endocrinol*. 161; 202-207.
- Turner J.F.** 2007. Adaptive radiation of cichlid fish. *Curr Biol*. 17; R827-R831.
- Van Zweden J.S.** 2010. The evolution of honest queen pheromones in insect societies. *Commun Integr Biol*. 3; 50-52.
- Varley M., Symmes D.** 1966. The hierarchy of dominance in a group of macaques. *Behaviour*. 27; 54-75.
- Wadenback J., Clapham D.H., Craig D., Sederoff R., Peter G.F., von Arnold S., Egertsdotter U.** 2005. Comparison of standard exponential and linear techniques to amplify small cDNA samples for microarrays. *BMC Genomics*. 6;61-68.
- Werner N.Y., Balshine S., Leach B., Lotem A.** 2003. Helping opportunities and space segregation in cooperatively breeding cichlids. *Behav Ecol*. 14; 749-756.

Wilson E.O. 1971. The insect societies. Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, États-Unis.

Wilson E.O. 1975. Sociobiology: the new synthesis. Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, États-Unis.

Wingfield J.C., Hegner R.E., Lewis D.M. 1992. Hormonal responses to removal of a breeding male in the cooperatively breeding white-browed sparrow weaver, *Plocepasser mahali*. 26; 145-155.

Wong M.Y.L., Munday P.L., Buston P.M., Jones G.P. 2008. Fasting or feasting in a fish social hierarchy. Curr Biol. 18; R372-373.

Zahavi A. 1975. Mate selection – A selection for a handicap. J Theor Biol. 53; 205-214.

Zahavi A. 1995. Altruism as a handicap – The limitations of kin selection and reciprocity. J Avian Biol. 26; 1-3.

8. Annexe 1 : Éthogramme de *Neolamprologus pulcher*

COMPORTEMENT (et code)		DESCRIPTION
ENTRETIEN	Nage: Na (<i>Swim: Sw</i>)	Locomotion plutôt lente utilisant les nageoires pectorales.
	Immobile: Im (<i>Still: St</i>)	Pas de locomotion ou de mouvement des nageoires pectorales.
	Fonce (se précipite): F (<i>Dart: D</i>)	Une nage spontanée qui n'est pas ciblée (n'est pas non plus une fuite).
	Baille: B (<i>Yawn: Y</i>)	Étirement de la mâchoire.
	Mange: Ma (<i>Feed : Fe</i>)	Le poisson s'oriente vers une particule de nourriture et la prend en ouvrant la bouche (sans toujours réussir).
	Se gratte: Gr (<i>Scrape: Sc</i>)	Le poisson se gratte rapidement le côté ou le ventre contre une surface.
AGRESSIF	Poursuite: P (<i>Chase: Ch</i>)	Le poisson focal fonce sur vers un autre poisson , de manière dirigée.
	Morsure: Mo (<i>Bite: B</i>)	Le poisson focal mord un autre poisson.
	Ruade: R (<i>Ram: R</i>)	Le poisson focal fonce vers un autre poisson, le touche avec la tête ou la bouche (souvent sans morsure) puis change de trajectoire.
	Posture agressive: Pa (<i>Aggressive posture: Ap</i>)	Le poisson focal abaisse la tête et relève la queue face au poisson visé. Posture visant à intimider.
	Gonflement operculaire: Go (<i>Puffed throat : Pt</i>)	Le poisson focal ouvre les opercules et abaisse le plancher de la cavité buccale (souvent accompagné de la posture agressive). Posture visant à intimider.
	Bataille buccale: Bb (<i>Mouth-fighting: MF</i>)	Le poisson focal et un autre poisson bloquent leurs mâchoires en se mordant mutuellement et se poussent l'un contre l'autre. Mouvements d'avant en arrière. Comportement le plus agressif chez cette espèce.
	Pseudo bataille buccale: Ps-Bb (<i>Pseudo-mouth-fighting: Ps-MF</i>)	Le mouvement d'avant en arrière a lieu sans le contact des mâchoires. Peut mener à une bataille buccale
	Secouer la tête: St (<i>Head shake: Hs</i>)	Le poisson secoue vigoureusement et répétitivement la tête d'un côté à l'autre. Le corps prend la forme d'un S.

COMPORTEMENTS (et codes)		DESCRIPTION
AGRESSIF (suite)	Soulève nageoire dorsale: Snd (<i>Raise dorsal fin: Rdf</i>)	Le poisson soulève la nageoire dorsale. Comportement effectué en position latérale. Parade agressive souvent accompagnée de gonflement operculaire.
	Déplacement: D (<i>Displacement: Dis</i>)	Un poisson se déplace lorsque le poisson focal nage vers lui. Il n'y a pas de poursuite ou de menace d'aucune sorte. Se produit lorsque les positions sociales sont bien établies.
DE SOUMISSION	Posture de soumission: Pos (<i>Submissive posture: Sp</i>)	La tête du poisson focal est dirigée vers le haut et la queue vers le bas. Le ventre est exposé. La posture peut être pratiquement verticale.
	Démonstration de soumission: Ds (<i>Submissive display: Sd</i>)	Posture de soumission accompagnée d'un frémissement rapide de la queue dirigé vers un autre poisson.
	Fuite: Fu (<i>Flee or Chased: Fl or Chd</i>)	Le poisson focal nage rapidement en s'éloignant d'un autre poisson. Peut aussi être codé comme « poursuivi par ».
	Mordu: Mu (<i>Bitten: Bt</i>)	Le poisson focal est mordu par un autre poisson.
AGRESSIF/ SUBORDONNÉ	Crochet ou Attaque en J: J (<i>Hook/J Display: Hk or J</i>)	Le poisson focal fonce vers un autre, le touche avec la tête ou le mord puis change de trajectoire et fait une démonstration de soumission. Le tout prend la forme d'un J se terminant par une démonstration de frustration.
DÉFENSE DU TERRITOIRE	Comportements agressifs: Pa(cons ou hétéro) Go(cons ou hétéro) Mo(cons ou hétéro) Bb(cons ou hétéro)	Comportements agressifs contre un cons- ou un hétérospécifique intru sur le territoire. ou un miroir (simule l'intrusion du territoire par un conspécifique).
ENTRETIEN DU TERRITOIRE *Ces comportements sont plus fréquents durant la période précédant la ponte	Creuser: Cr (<i>Dig: Dg</i>)	Le poisson focal prend une « bouchée » de sable et la recrache (ressemble à l'alimentation mais le sable est recraché par la bouche plutôt que par les branchies). Sert à dégager les abris ou la chambre de reproduction.
	Transport: Tr (<i>Carrying: Ca</i>)	Le poisson focal prend une « bouchée » de sable ou une roche, et se déplace avant de le recracher. Creuser avec un déplacement.
	Creuse avec le corps: Cc (<i>Body digging: bdg</i>)	Le poisson focal se place habituellement dans l'entrée de l'abri à dégager et secoue son corps rapidement de manière latérale. C'est une façon de creuser plus efficacement.
SOCIAL	Frémissement: Fr (<i>Quivering: Qu</i>)	Semblable au frémissement de la queue mais tout le corps tremble. Peut être adressé par un subordonné au dominant ou ne pas être dirigé. Les membres de la paire reproductrice peuvent le faire simultanément.

COMPORTEMENTS (et codes)		DESCRIPTION
SOCIAL *Comportements d'affiliation sociale ou de reproduction s'il se produit entre les membres de la paire reproductrice.	Contact doux: Cd (<i>Soft touch: St</i>)	Contact bref et lent, souvent du dessus du corps, donné par le poisson focal à un autre. Ce n'est pas un comportement agressif, l'approche et le contact se font doucement.
	Suivre: Su (<i>Following: Fo</i>)	Le poisson focal en suit un autre.
	Nage en parallèle: N// (<i>Parallel swim: PS or //sw</i>)	Deux poissons nagent en parallèle l'un avec l'autre. Ce comportement peut être initié par un des participants; dans ce cas l'indiquer. Lorsqu'effectué par la paire reproductrice, ceux-ci peuvent nager verticalement (plus souvent observé sur le terrain).
	Rencontre en groupe: Rg (<i>Group meeting: GM</i>)	Plusieurs poissons du groupe social et souvent de groupes voisins se regroupent sans raison apparente. Souvent plusieurs autres comportements sociaux s'y déroulent notamment Suivre et Nage en parallèle.
REPRODUCTION *Ces comportements ne peuvent être observés en nature	Frai: Fr (<i>Spawning: Sp</i>)	Le poisson focal se retourne sur le dos et frotte sa papille génitale sur le substrat (toit de l'abri) en relâchant des œufs ou du sperme. Accompagné de frémissements.
	Pseudo frai: Ps-Fr (<i>Pseudo-Spawning: Ps-Sp</i>)	Le poisson focal se retourne sur le dos et frotte sa papille génitale sur le substrat (toit de l'abri) sans relâcher de gamètes. Ce comportement peut se produire plusieurs fois par jour et être accompagné de frémissements.
SOIN AUX JEUNES *Peuvent être exercés par tous les poissons du groupe	Garde: G (<i>Hover: H</i>)	Le poisson focal défend la chambre reproductrice ou les jeunes (alors qu'ils se tiennent en banc) en restant immobile et en empêchant d'autres poissons d'approcher ou de pénétrer la chambre de reproduction.
	Chambre reproductrice: Ch(temps) ex: Ch(10s) (<i>Brood chamber: Bc(time)</i>)	Le poisson focal entre dans la chambre reproductrice (moitié du corps à l'intérieur au moins). Souvent, ce sont les poissons les plus dominants qui pénètrent la chambre reproductrice. C'est une mesure de soin parental et de défense de la portée mais peut aussi signifier la fraie en milieu naturel.
	Micronettoyage: Mn (<i>Micronipping: Mn</i>)	Le poisson focal touche les œufs avec sa bouche pour en consommer les œufs contaminés par des champignons ou pour les tourner sur le substrat et ainsi leur assurer un développement approprié.
	Aération des œufs: Aé (<i>Egg fanning: Fn</i>)	Aération des œufs en formant un courant à l'aide des nageoires pectorales. Souvent le poisson focal se place de côté par rapport aux œufs. Comportement observé plus fréquemment en nature ou lorsque la quantité d'oxygène dissout dans l'eau est insuffisante.

* Également prendre en note tous les comportements dirigés au poisson focal.

Éthogramme traduit et modifié par Sophie St-Cyr à partir de celui du laboratoire de Dre. Balshine à McMaster University, 2008.

9. Annexe 2 : Expression de gènes dans le cerveau

9.1. Introduction

9.1.1. Concept de biopuce

Une biopuce d'ADNc (ADN complémentaire) consiste en une lame de microscope contenant des points sur lesquels se retrouvent l'ADNc d'une séquence spécifique d'ADN séquencée. Ces séquences seront de préférence associées à un gène dont la fonction est connue et disponible dans une banque de séquences (Schena et al. 1995) tel que NCBI (National Center for Biotechnology Information). Le concept est d'hybrider compétitivement sur cette lame l'ARN total, rétrotranscrit en ARNc, de deux échantillons colorés différemment. L'hybridation compétitive des deux échantillons est due à la quantité limitée de molécules d'ADNc disponibles sur la biopuce possédant une séquence complémentaire spécifique. L'ARNc des deux échantillons étant marqué de couleurs différentes, vert et rouge, la couleur de laquelle est le point indique quel échantillon contient le plus de la séquence spécifique associée à ce point (**Figure 9.1**). L'amplitude de la différence d'hybridation est également calculée lors de la lecture de la biopuce. Lorsqu'un point est vert, l'échantillon marqué en vert contient plus de cette séquence spécifique que l'échantillon coloré en rouge et inversement pour un point rouge. Un point jaune signifie que les deux échantillons contiennent la même quantité de la séquence spécifique associée à ce point. Hard et al. (2005) ont ainsi comparés le patron d'expression de gènes entre une souris exposée à l'alcool durant son développement et une souris ayant eut un développement normale. 25 gènes sous-exprimés chez les souris ayant été exposées à l'alcool durant la gestation furent découverts. Des études subséquentes peuvent alors se pencher sur les mécanismes de la régulation de l'expression de ces gènes par l'alcool. La biopuce est donc une méthode moléculaire de haute efficacité, c'est-à-dire qui permet d'obtenir en peu de temps des milliers de résultats bruts qui permettent de restreindre le champ de recherche à quelques gènes candidats pour expliquer le sujet qui nous intéresse. Cette méthode a plusieurs autres fonctions; elle peut entre autre être utilisée pour des

questions écologiques, par exemple pour déterminer les adaptations spécifiques à des populations d'une même espèce vivant dans des environnements distincts (Oleksiak et al. 2002 mais voir St-Cyr et Aubin-Horth 2009 pour plus d'exemples).

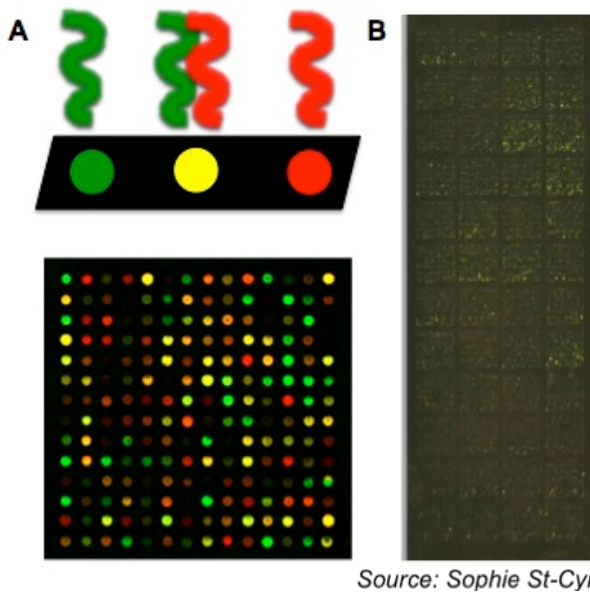


Figure 9.1. Représentation schématique et réelle d'une biopuce.

A. Représentation schématique d'une biopuce. Haut : Un point vert signifie que l'échantillon coloré en vert contient plus de la séquence spécifique associée à ce point que l'échantillon coloré en rouge et inversement pour le point rouge. Un point jaune signifie que l'on retrouve la même quantité de la séquence spécifique associée à ce point dans les deux échantillons hybridés compétitivement sur la biopuce. Bas : On obtient ainsi une mosaïque de points colorés représentant des séquences d'ADNc différentes. B. Biopuce utilisée dans cette expérience contenant près de 20 000 points.

9.1.2. Objectif et hypothèse

L'utilisation de biopuces permet de comparer le patron d'expression de gènes de deux échantillons distincts à la fois. Cette étude vise à comparer deux à deux les femelles *N. pulcher* ascendantes aux femelles dominantes stables et subordonnées stables. En comparant les femelles ascendantes à des femelles de statut social stable, des gènes candidats spécifiquement associés à l'ascension sociale, soit exprimés à un niveau significativement différent à la fois des femelles dominantes stables et subordonnées stables, pourraient être découverts. Le niveau de tels gènes pourrait être intermédiaire ou significativement sur- ou sous-exprimés par rapport aux femelles de statuts sociaux stables. L'hypothèse est que nous trouverons quelques gènes candidats spécifiques à l'ascension sociale. Ces gènes pourront ensuite être étudiés individuellement et en détail afin de comprendre les mécanismes sous-jacents à leur action.

9.2. Matériel et méthodes

9.2.1. Prélèvement du cerveau entier

Le cerveau complet était prélevé après le sang, moins de 4 minutes après le sacrifice. Le cerveau était extrait en utilisant une surface et des instruments nettoyés avec de l'RNaseZap (Ambion #AM9780) et placé dans de l'RNAlater (Ambion #AM7021) pour éviter la dégradation de l'ARN. Ces échantillons sont ensuite conservés à -10°C. De retour au Canada, les cerveaux étaient stockés à -20°C.

9.2.2. Patron de comparaison expérimental

Le patron d'expression de gènes du cerveau de 6 femelles de chaque statut social, soit dominante stable, subordonnée stable et ascendante, étaient comparés en utilisant une comparaison par patron de référence incluant des inversion de colorants comme réplikat techniques (**Figure 9.2**). Chacune des femelles ascendantes était comparée à la fois à une femelle dominante et à une femelle subordonnée stable. Ce patron était répété six fois, une fois pour chacune des femelles ascendantes. La comparaison par patron de référence en

utilisant des répliquats techniques est un modèle expérimental robuste pour les biopuces à base d'ADNc (Churchill 2002). L'ARN des femelles dominantes et subordonnées stables était utilisé deux fois pour chaque individu afin de faire l'inversion de colorant. L'ARN des femelles ascendantes était utilisé quatre fois pour chaque individu puisqu'il était comparé à la fois à une femelle dominante et à une femelle subordonnée qui avait chacun un répliquat technique. L'utilisation de ce patron de comparaison permet de maintenir l'individualité des patrons d'expression de gènes du cerveau qui pourrait éventuellement montrer la variation de ces patrons au sein d'un même statut social. Ce patron de comparaison permet également de comparer indirectement les patrons d'expression de gènes du cerveau des femelles dominantes et subordonnées en passant par la comparaison commune avec la femelle ascendante, qui sert alors de référence pour calculer l'expression différentielle des gènes.

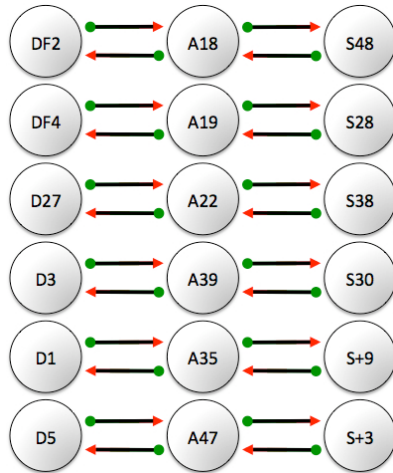


Figure 9.2. Comparaison par patron de référence avec inversion de colorant.

La comparaison par patron de référence nous permet de comparer le patron d'expression de gène dans le cerveau d'une femelle ascendante spécifique avec celui d'une femelle dominante stable et d'une femelle subordonnée stable. Le rond vert à la base des flèches indique que l'ARNc de l'échantillon est coloré en vert alors que la pointe rouge indique que l'autre échantillon hybridé à la même biopuce est coloré en rouge. Chaque comparaison d'individus comporte deux biopuces dont les colorants sont inversés en guise de réplicat technique afin de faire la moyenne des résultats d'hybridation. Légende. D : femelle dominante stable, A : femelle ascendante, S : femelle subordonnée stable.

9.2.3. Biopuce utilisée

La biopuce utilisée dans cette étude contenait 19 200 points. Les séquences sur la puce avaient été construites à partir de quatre librairies d'ADNc d'*Astatotilapia burtoni*, un cichlidé africain tout comme *N. pulcher*. Les séquences utilisées étaient pour la plupart exprimées spécifiquement dans le cerveau puisque le cerveau est central dans le contrôle des fonctions physiologiques, reproductives et comportementales (NCBI GEO Platform GLP528, Renn et al. 2004). Les séquences étaient annotées tel que décrit dans Renn et al. (2008). La phylogénie suggère que les espèces *N. pulcher* et *A. burtoni* ont divergé relativement récemment, il y a environ 3 millions d'années (Salzburger et al. 2005). L'hybridation hétérologue de l'ARN de *N. pulcher* sur la biopuce construite à partir de séquences de *A. burtoni* a donné des résultats significatifs lorsque la quantité d'ARN hybridé sur la biopuce était le double que la quantité nécessaire pour l'espèce pour laquelle est faite la biopuce, soit *A. burtoni* (Renn et al. 2004, Aubin-Horth et al. 2007).

9.2.4. Extraction de l'ARN du cerveau et préparation de l'ARN total

L'ARN total des cerveaux était extrait selon un protocole standard utilisant du TRIzol (Invitrogen) après avoir homogénéisé le cerveau à l'aide d'un marteau et d'un pilon électrique. L'ARN total était resuspendu dans de l'RNA storage solution (Ambion) et stocké à -80°C. L'intégrité de l'ARN était vérifiée par électrophorèse sur microcapillaire (IRIC, Montréal, CA) et la concentration exacte d'ARN total était mesurée à l'aide de Ribogreen. L'ARN devait ensuite être rétrotranscrit en ADNc et amplifié car les concentrations étaient trop faibles pour faire toutes les comparaisons prévues selon notre comparaison par patron de référence avec réplicat technique. Le MessageAmp II aRNA amplification kit (Ambion AM1751) fut utilisé pour l'amplification, tel que suggéré par Schneider et al. (2004) et Wadenback et al. (2005). Nous avons ensuite vérifié la quantité exacte d'ARN total obtenue à l'aide de Ribogreen.

9.2.5. Hybridation à la biopuce

Les biopuces utilisées ont été imprimées en 2007 mais le blocage a été effectué en 2009. Pour chaque biopuce, quatre μg d'ARN amino-allyl-modified (groupement allyl ajouté à la molécule d'ARN pour permettre d'accrocher un colorant fluorescent) spécifique à chacune des deux femelles que l'on veut comparer étaient marqués respectivement l'un avec un colorant rouge (Cy5), l'autre avec un colorant vert (Cy3, Ambion AM1751). Les échantillons d'ARN marqués étaient ensuite hybridés compétitivement à la biopuce en suivant un protocole standard (protocole détaillé dans Renn et al. 2004). L'ajout du colorant était effectué de manière indépendante pour chaque échantillon le jour de l'hybridation puisque les colorants fluorescents ont une durée de vie limitée.

9.2.6. Analyse de l'image

Les biopuces étaient scannées avec un Axon GenePix 4000B (Axon Instruments) à l'aide du programme GenePix 1. Les points étaient examinés individuellement et marqués comme « inutilisable » si des irrégularités tel des poussières étaient présentes sur le point, si l'intensité du point était trop forte (bleached spots) ou plus faible que l'arrière-plan immédiat de plus de deux écart types. Les données brutes filtrées étaient ensuite importées dans R version 2.7.1. (R Foundation for Statistical Computing) et normalisées en utilisant le « Linear Models for Microarray Data package » (Limma, Smyth 2005). Les intensités moyennes des points moins l'intensité de l'arrière-plan, en utilisant la méthode « minimum », étaient normalisées en utilisant le « within-array loess normalization » et le « print-tip loess normalization ». Finalement, le ratio des intensités pour les deux échantillons était calculé.

9.3. Résultats

9.3.1. Comparaison quantitative des patrons d'expression de gènes du cerveau entre les statuts sociaux

Le patron d'expression de gène associé aux femelles ascendante se distingue de celui des femelles dominantes et subordonnées stables (**Figure 9.3**). 84 séquences sont différemment exprimées entre les femelles ascendantes et les subordonnées stables alors que 34 le sont entre les femelles ascendantes et les femelles dominantes stables. Ces séquences sont différemment exprimées entre l'ensemble des femelles ascendantes et l'ensemble des femelles subordonnées ou dominantes stables. Le patron d'expression de gène du cerveau des femelles ascendantes se rapproche donc plus des femelles dominantes que subordonnées, signifiant qu'après six jours d'ascension sociale, les femelles ascendantes sont plus près des femelles dominantes que des femelles subordonnées en ce qui concerne le patron d'expression de gènes dans le cerveau. Aucune séquence spécifiquement associée à l'ascension sociale n'est trouvée puisque aucune séquence n'est à la fois différemment exprimée entre les femelles ascendantes et les femelles subordonnées et entre les femelles ascendantes et les femelles dominantes.

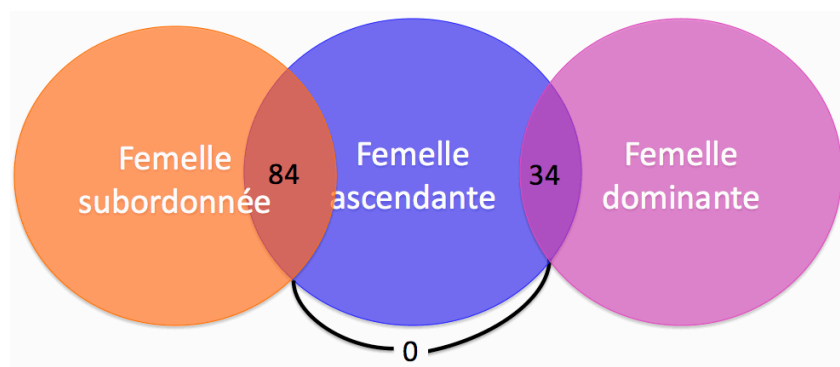


Figure 9.3. Comparaison des patrons d'expression de gène entre les femelles ascendantes et les femelles dominantes et subordonnées stables.

Les cercles représentent l'ensemble des gènes exprimés dans le cerveau des femelles des différents statuts sociaux : dominant stable, subordonné stable et ascendant. L'aire de recouvrement entre les cercles contenant un chiffre représente le nombre de séquences différemment exprimées entre l'ensemble des femelles ascendantes et l'ensemble des femelles subordonnées ou des femelles dominantes stables. Le chiffre qui relie les deux aires de recouvrement montre le nombre de gènes différemment exprimés à la fois entre les femelles ascendantes et subordonnées et les femelles ascendantes et dominantes.

9.3.2. Problèmes d'analyse des résultats de biopuce

Plusieurs problèmes avec l'analyse de ces résultats nous empêchent de les considérer comme publiables ou de discuter des séquences trouvées comme étant différentiellement exprimées entre les statuts sociaux. L'obstacle majeur est que la statistique Bayésienne, permettant de corriger la valeur du test de t de Student lors de test multiples, ici 19 200 de ces tests, ne se calcule pas correctement. Ainsi, nos résultats ne sont pas assez contraignants et nous obtenons sans doute plus de gènes candidats qu'en utilisant les résultats suivant l'utilisation de la correction par la statistique Bayésienne. L'autre problème consiste dans le fait que les 19 200 points ne représentent pas tous des séquences différentes. Il existe plusieurs réplicat de chaque séquence qui sont dispersés sur la biopuce afin de contrôler pour l'effet de la position du point sur le degré d'hybridation. Il faut donc lier ces réplicat afin que la moyenne des résultats d'hybridation soit calculée et non pas que, comme actuellement, plusieurs tests soient effectués pour la même séquence. De plus, des séquences sur lesquelles nous n'avons aucune indication de la protéine codée et de sa fonction devaient être retirées lors de l'analyse puisqu'elles ne sont pas informatives. Mes connaissances limitées du langage R m'ont empêché de terminer l'analyse des biopuces de façon satisfaisante. Cette analyse sera terminée et publiée en 2011 mais pas à temps pour que les résultats soient inclus à ce mémoire.